

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EFECTO PROTECTOR DE EXTRACTOS DE HOJAS Y
FLORES DE CAZAHUATE *Ipomoea murucoides* Roem. &
Schult. CONTRA LOS EFECTOS TÓXICOS DEL
VENENO DEL ALACRÁN *Centruroides limpidus* (Karsch,
1879).”

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA

Q.F.B. IVONNE ACOSTA BUITRÓN

DIRIGIDA POR

Dr. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2024.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



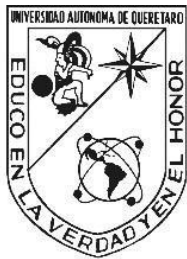
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

“EFECTO PROTECTOR DE EXTRACTOS DE HOJAS Y FLORES DE CAZAHUATE *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. CONTRA LOS EFECTOS TÓXICOS DEL VENENO DEL ALACRÁN *Centruroides limpidus* Karsch, 1879.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA

IVONNE ACOSTA BUITRÓN

DIRIGIDA POR

Dr. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO

SINODALES

Dr. José Alejandro García Arredondo

Presidente

Dr. Mamadou Moustapha Bah

Secretario

Dra. Laura Cristina Berumen Segura

Vocal

Dr. José Fernando Lazcano Pérez

Suplente

M. en C. José Alejandro Cabrera Luna

Suplente

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	3
ÍNDICE DE CUADROS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ABREVIATURAS Y SIGLAS	7
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
DECLARACIÓN DE ESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	14
2.1. Envenenamiento por mordedura y picadura de animales venenosos	14
2.2. Picadura de alacrán	14
2.2.1. Veneno de <i>Centruroides limpidus</i> (Karsch, 1879)	16
2.2.2. Escorpionismo e intoxicación por picadura de alacrán	22
2.3. Medicina tradicional	24
2.4. Género <i>Ipomoea</i> L.	25
2.5. <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	27
2.5.1. Usos tradicionales de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	28
2.5.2. Perfil fitoquímico de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	30
3. JUSTIFICACIÓN	34
4. HIPÓTESIS	32
5. OBJETIVOS	33
5.1 Objetivo General	33
5.2 Objetivos específicos	32
6. METODOLOGÍA	34
6.1. Animales de experimentación	35
6.2. Recolección del material vegetal y preparación de los extractos de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	37

6.3. Perfil fitoquímico de los extractos de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult	38
6.4. Recolección y obtención del veneno de <i>Centruroides limpidus</i> (Karsch, 1879)	38
6.5. Evaluación del efecto anti-inflamatorio	39
6.6. Evaluación de la inhibición de la actividad fosfolipasa A ₂	40
6.7. Evaluación de la inhibición de la actividad hialuronidasa	40
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
7.1 Recolección del material vegetal y preparación de los extractos de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	41
7.2 Recolección y obtención del veneno de <i>C. limpidus</i> (Karsch, 1879)	42
7.3 Evaluación del efecto anti-inflamatorio	42
7.4 Evaluación en íleon aislado de rata	43
7.5 Evaluación de la inhibición de la actividad de fosfolipasa A ₂	47
7.6 Evaluación de la inhibición de la actividad de hialuronidasa	48
8. CONCLUSIONES	53
9. REFERENCIAS	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Síntomas de intoxicación por picadura de alacrán	23
2	Clasificación estructural de las murocoidinas	30
3	Rendimientos de los extractos de diferentes polaridades de hojas y flores. de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Shult.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ejemplares adultos de <i>Centruroides limpidus</i> (Karsch, 1879)	16
2	Telson de un ejemplar de <i>Centruroides limpidus</i> (Karsch, 1879) con una gota de su veneno	17
3	Estructura química de una resina glicosídica característica presente en el género <i>Ipomoea</i> L.	26
4	Ejemplar de <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	28
5	Compuestos identificados en <i>Ipomoea pes-caprae</i> (L.) R. Br. con actividad antinociceptiva e inhibidores de la síntesis de prostaglandinas	29
6	Compuestos identificados en <i>Ipomoea aquatica</i> Forssk con efecto en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas	31
7	Estructura química de las murocoidinas I – IV, VI – X y XVIII	32
8	Estructura química de las murocoidinas V y XI - XVII	33
9	Estructura química de las murocicinas I - V	34
10	Ensayo de edema plantar que muestra el efecto inflamatorio del veneno de <i>C. limpidus</i> (Clv) solo y con la aplicación de los extractos de las hojas de <i>I. murucoides</i> por vía tópica (A) y oral (B)	43
11	Registro de las contracciones de íleon aislado de rata. Controles A: Acetilcolina (0.003 M) y B: Verapamilo (0.003)	46
12	Disminución de la tensión en íleon aislado de rata, en presencia de veneno de <i>C. limpidus</i> (Clv, 20 µg/ml), y de veneno pre-incubado con el extracto acuoso (EA) de las hojas de <i>I. murucoides</i> (1000 µg/ml)	47
13	Actividad fosfolipasa del veneno de <i>C. limpidus</i> (sPLA2 Clv) en comparación con la actividad de una fosfolipasa del veneno de abeja (sPLA2 veneno de abeja)	48
14	Actividad de hialuronidasa del veneno de <i>C. limpidus</i> comparada con la actividad del control positivo de hialuronidasa de testículo bovino	49
15	Inhibición de la actividad hialuronidasa de los extractos acuoso y etanólicos de las hojas y flores de <i>I. murucoides</i> contra el veneno de <i>C. limpidus</i> (5 µg proteína)	50

ABREVIATURAS Y SIGLAS

Ag5	Antígeno 5
CliEnzHya	Transcrito que codifica para una enzima de tipo hialuronidasa de <i>Centruroides limpidus</i>
CliEnzMet	Transcrito que codifica para una enzima de <i>Centruroides limpidus</i> de tipo metaloproteasa
CliEnzPA	Transcrito que codifica para una enzima de tipo fosfolipasa de <i>Centruroides limpidus</i>
CliEnzSep	Transcrito que codifica para una enzima de tipo serinproteasa de <i>Centruroides limpidus</i>
CliHDPAni	Transcrito que codifica para una péptido aniónico de <i>Centruroides limpidus</i>
CliHDPDef	Transcrito que codifica para una péptido de defensa <i>Centruroides limpidus</i>
CliHDPND	Transcrito que codifica para una péptido sin puente disulfuro de <i>Centruroides limpidus</i>
CliKTxAlp	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de potasio tipo alfa de <i>Centruroides limpidus</i>
CliKTxBet	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de potasio tipo beta de <i>Centruroides limpidus</i>
CliKTxDel	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de potasio tipo delta de <i>Centruroides limpidus</i>
CliKTxGam	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de potasio tipo gama de <i>Centruroides limpidus</i>
CliKTxLam	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de potasio tipo lamda de <i>Centruroides limpidus</i>
CliNaTxAlp	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de sodio tipo alfa de <i>Centruroides limpidus</i>
CliNaTxBet	Transcrito que codifica para una toxina moduladora de canales de sodio tipo beta de <i>Centruroides limpidus</i>
CII	Toxina de <i>Centruroides limpidus</i>
CRISP	Proteínas secretoras ricas en cisteína
CS	Pliegue estabilizado por costeína
DL50	Dosis letal media
ERG	Canales de potasio que se rectifican internamente

HDP	Péptidos de defensa del hospedero
ICK	Nudo cistina inhibidor
IGF	Proteínas de unión al factor de crecimiento similar a la insulina
IPPA	Intoxicación por Picadura de Alacrán
KCa	Canales de potasio activados por calcio
KTx	Toxinas moduladores de canales de potasio
Kv	Canales de potasio activados por voltaje
NaTx	Toxinas moduladoras de canales de sodio
NDBP	Péptidos sin fuente disulfuro
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PR-1	Superfamilia de proteínas relacionadas con la patogénesis
SS	Secretaria de Salud
λ -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo lambda
α -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo alfa
α -NaTx	Toxinas moduladoras de canales de sodio tipo alfa
β -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo beta
β -NaTx	Toxinas moduladoras de canales de sodio tipo beta
δ -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo delta
ϵ -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo épsilon
κ -KTx	Toxinas moduladoras de canales de potasio tipo kappa

RESUMEN

Las plantas del género *Ipomoea* son ampliamente utilizadas para tratar distintos padecimientos, entre ellos los envenenamientos. Por ejemplo, *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. se usa en la medicina tradicional para tratar picaduras por cnidarios, e *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. para picaduras de alacranes. México es uno de los países con más incidencias de envenenamientos por picadura y mordedura de animales venenosos, pues, se encuentra entre los primeros con mayores cifras de intoxicación por picadura de alacrán, y el principal responsable es el alacrán *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879), para el cual existe un antiveneno que suele ser costoso y escaso. *Ipomoea murucoides* es un árbol endémico de México ampliamente distribuido en el estado de Querétaro. Hasta el momento, no se han hecho estudios para comprobar su efectividad para el tratamiento de intoxicación por picaduras de alacrán. Considerando la falta de antídotos para tratar las picaduras y mordeduras de animales venenosos, en este proyecto se propuso evaluar el efecto de los extractos con solventes de diferentes polaridades de las hojas y flores de *I. murucoides*, contra los efectos tóxicos del veneno del alacrán *C. limpidus*. Los extractos se obtuvieron mediante maceraciones consecutivas con diclorometano, etanol y agua. Se evaluaron algunos efectos del veneno de *C. limpidus* mediante ensayos enzimáticos de hialuronidasa y fosfolipasa A₂, así como inflamación por el ensayo de edema plantar en ratas y sobre las contracciones espontáneas de íleon aislado de rata. Los resultados de esta investigación mostraron que los extractos acuosos de las hojas y flores de *I. murucoides* redujeron de manera significativa la inflamación plantar inducida por el veneno de *C. limpidus*, así como también la actividad enzimática de la hialuronidasa de dicho veneno. Además, el extracto acuoso de las hojas de *I. murucoides* modificó de manera significativa el efecto del veneno sobre las contracciones espontáneas de los segmentos de íleon aislados de rata. Este estudio demuestra que los extractos acuosos de las hojas y flores de *I. murucoides* contienen compuestos capaces de contrarrestar algunos efectos inducidos por el veneno del alacrán *C. limpidus*.

Palabras clave: *Ipomoea murucoides*, caahuate, medicina tradicional, veneno de alacrán, *Centruroides limpidus*.

ABSTRACT

Plants of the *Ipomoea* genus are widely used to treat different conditions, including poisoning. For example, *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. is used in traditional medicine to treat cnidarian bites, and *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. for scorpion bites. Mexico is one of the countries with the highest incidence of poisoning caused by the sting and bite of poisonous animals, as it is among the first ones with the highest numbers of poisoning due to scorpion stings, and the main responsible is the scorpion *Centruroides limpidus* (Karsch , 1879). which has antivenom but is usually expensive and scarce. *Ipomoea murucoides* is an endemic tree from Mexico and widely distributed in the state of Querétaro. To date, no studies have been done to verify its effectiveness for the treatment of poisoning from scorpion stings. Considering the lack of antidotes to treat stings and bites of poisonous animals, this project aimed to evaluate the effect of extracts with solvents of different polarities from the leaves and flowers of *I. murucoides*, against the toxic effects of scorpion venom *C. limpidus*. The extracts were obtained by consecutive macerations with dichloromethane, ethanol and water. Some effects of *C. limpidus* venom were evaluated by enzymatic assays using hyaluronidase and phospholipase A2, as well as inflammation by the plantar edema assay in rats, and on spontaneous contractions of isolated rat ileum. The results of this research showed that aqueous extracts from the leaves and flowers of *I. murucoides* significantly reduced plantar inflammation induced by *C. limpidus* venom, as well as the enzymatic activity of hyaluronidase of this venom. Furthermore, the aqueous extract of *I. murucoides* leaves significantly modified the effect of the venom on spontaneous contractions of the ileum segments. This study demonstrated that the aqueous extracts of the leaves and flowers of *I. murucoides* contain compounds capable of inhibiting some effects induced by the venom of the scorpion *C. limpidus*.

Keywords: *Ipomoea murucoides*, cazahuate, traditional medicine, scorpion venom, *Centruroides limpidus*.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

ATENTAMENTE

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ivonne Acosta Buitrón', with a stylized flourish at the end.

Ivonne Acosta Buitrón

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas del género *Ipomoea* (L.) son utilizadas tradicionalmente por sus propiedades antimicrobianas, analgésicas, espasmolíticas, espasmogénicas, hipotensoras, anticancerígenas, antiinflamatorias y antinociceptivas (Corona-Castañeda y col., 2013; Furtado y col., 2016; Giovannini y col., 2017; Meira y col., 2012). Algunas especies de este género se usan por sus propiedades antiveneno; por ejemplo, en la medicina tradicional se ha usado *I. pes-caprae* (L.) R. Br. para tratar picaduras de cnidarios. En algunos estudios farmacológicos se ha comprobado que los extractos de las hojas de *I. pes-caprae* contrarrestan distintos efectos tóxicos de medusas marinas (Pongprayoon^{1,2} y col., 1991), además de atenuar los efectos nociceptivos e inflamación causada por cnidarios en ratones (daSilva y col., 2017). La efectividad de *I. pes-caprae* se ha demostrado con la creación de un gel tópico con propiedades anti-inflamatorias y anti-ofídicas (Xavier-Santos y col., 2022).

La especie *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. es un árbol endémico de México, comúnmente conocido como “cazahuate” y se distribuye ampliamente en los bosques secos tropicales del centro y sur de nuestro país (Flores-Palacios y col., 2015). Es utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar los efectos inflamatorios de la picadura de alacrán a través de las infusiones de sus hojas y flores (Meira y col., 2012). Sin embargo, es importante mencionar que hasta el momento no existen estudios que demuestren la efectividad de esta especie para contrarrestar los efectos de los venenos de alacranes.

La intoxicación por picadura de alacrán (IPPA) es el estado de envenenamiento por la inoculación de veneno de alacrán mediante la picadura de este arácnido. En México es ocasionada por los alacranes del género *Centruroides* (Marx, 1889) y representa un problema de salud importante (Secretaría de Salud, 2012). Desde el 2008 hasta el 2020, se han registrado hasta 319 mil casos de IPPA por año en nuestro país (Castañeda- Gómez y col., 2020), siendo *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879) el responsable de un tercio de estos casos (Cid-Urbe y col., 2019). Su veneno consiste en una mezcla compleja de proteínas, péptidos tóxicos, enzimas, lípidos, nucleótidos,

sales orgánicas y aminoácidos (Olamedi-Portugal y col., 2017). Su dosis letal media en ratones por vía intraperitoneal corresponde a 15 µg por 20 g de peso (Fernandez-Taboada y col., 2021). Los síntomas de intoxicación que se manifiestan por picadura de alacrán pueden ser leves, como dolor, hinchazón y eritema en la zona de la picadura, pero en algunos casos pueden presentarse signos y síntomas más graves como convulsiones, ceguera transitoria y edema pulmonar agudo, o incluso la muerte (Secretaría de Salud, 2012). Los envenenamientos causados por alacranes del género *Centruroides* requieren de tratamiento médico inmediato y adecuado, que consiste en la aplicación de un antídoto basado en inmunoglobulinas con alta especificidad contra ciertas toxinas, conocido comúnmente como antiveneno. Desafortunadamente, su producción es muy costosa y se reserva para atender casos de envenenamiento severo (García- Arredondo y col., 2019).

La investigación de plantas medicinales es un enfoque asequible para descubrir nuevas moléculas bioactivas para resolver problemas de salud pública. Es por ello que en este proyecto de investigación, se planteó evaluar la capacidad de los extractos, de diferente polaridad, de las hojas y flores de *Ipomoea murucoides* para contrarrestar los efectos tóxicos del veneno del alacrán *Centruroides limpidus*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Envenenamiento por mordeduras y picaduras de animales venenosos

Los envenenamientos por mordeduras y picaduras de animales venenosos constituyen un serio problema de salud pública en América Latina (OPS, 2020). En 2008, la estimación de la carga mundial de accidentes por mordeduras de serpientes reportó hasta 1,841,000 envenenamientos y de hasta 94,000 muertes por año. En cuanto al envenenamiento por picadura de alacranes, tan solo en México y Brasil se han reportado aproximadamente entre 300 y 120 mil casos anuales (OPS, 2020).

El veneno se define como una secreción, producida en un tejido especializado (generalmente encapsulado en una glándula) en un animal y suministrada a un animal objetivo a través de infligir una herida (independientemente de cuán pequeña sea). Además, el veneno debe contener moléculas que interrumpen los procesos fisiológicos de la presa para facilitar la alimentación o la defensa del animal productor (Rode-Margono y Anne-Isola, 2015). Cada grupo de animales (familia, género o especie) contienen en su veneno sustancias tóxicas en cantidades diferentes, lo que constituye las características propias que provoca cada veneno, y que son responsables de los síntomas clínicos observados (SS, 2010).

2.2 Picadura de alacrán

Los alacranes o escorpiones se agrupan en el Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, orden Scorpiones (Olamedi-Portugal y col., 2017). Estos artrópodos han existido desde hace más de 430 millones de años, y con el tiempo se convirtieron en depredadores bien adaptados y sus venenos evolucionaron para contener moléculas farmacológicamente activas (Carcamo-Noriega y col., 2018). Se encuentran en casi todos los ambientes ecológicos, principalmente en las áreas tropicales, subtropicales y algunos se han adaptado a distintos ambientes desérticos y se han encontrado desde las cuevas más profundas de México, a 900 m bajo el nivel del mar, hasta la Cordillera de los Andes a 4910 m sobre el nivel del mar (Cid-Uribe y col., 2019; Silva-Domínguez

y col., 2019).

Hasta el momento, se conocen alrededor de 2,342 especies en el mundo, de las cuales 50 son peligrosas para los humanos. En México, se han reportado 289 especies de alacranes, de las cuales, 21 son reconocidas como de importancia médica, pues provocan cuadros clínicos graves hasta mortales. Estas especies venenosas pertenecen al género *Centruroides* de la familia *Buthidae*. Algunas de estas especies son las siguientes: *C. límpidus* (Karsch, 1879), *C. hirsutipalpus* (Ponce-Saavedra y Francke, 2009), *C. infamatus* (Carl Ludwin Koch, 1844), *C. noxius* (Wood, 1863), *C. suffus* (Pocock, 1902), *C. pallidiceps* (Pocock, 1902), *C. exillicauda* (Wood, 1863), *C. balsasensis* (Ponche y Francke, 2004), *C. meisei* (Hoffman, 1939), *C. villegasi* (Baldazo-Monsivaiz, Ponce-Saavedra y Flores-Moreno 2013), *C. bonito* (Quijano-Ravell, Teruel y PonceSaavedra, 2016) y *C. poncei* (Teruel, Kovarik, BaldazoMonsivais y Hoferek, 2015) (Secretaria de Salud, 2012; Silva-Domínguez y col., 2019).

En la Figura 1 se observan dos ejemplares adultos de *Centruroides límpidus*, los cuales se distribuyen ampliamente en áreas densamente pobladas dentro del territorio mexicano, incluyendo a los estados de Guerrero, Morelos, Estado de México, Michoacán, Querétaro, Hidalgo y Puebla (Cid-Uribe y col., 2017), donde el estado de Morelos reportó más accidentes por año en el 2011, con un total de 10,939 casos de intoxicación por picadura de alacrán (SS, 2012).



Figura 1. Ejemplares adultos de *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879), a) macho y b) hembra (Cid-Uribe y col., 2017).

2.2.1 Veneno de *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879)

El veneno de alacrán es una mezcla compleja que contiene proteínas, péptidos tóxicos, lípidos, nucleótidos, sales orgánicas y aminoácidos (Olamedi-Portugal y col., 2017). Los sistemas de veneno son innovaciones evolutivas clave de una amplia gama filogenética de linajes animales que se utilizan para la defensa, la disuasión de los competidores o la depredación. Dicho veneno se produce en el telson (o aguijón), un segmento terminal especializado del metasoma (Figura 2). En estas glándulas, se sintetizan y maduran los componentes peptídicos del veneno, que dan moléculas biológicamente activas mediante procesos de modificaciones postraduccionales, siendo las más comunes en los venenos de los alacranes la formación de puentes disulfuro a partir de pares de cisteínas y la amidación del C-terminal (Cid-Uribe y col., 2019; Delgado-Prudencio y col., 2019).



Figura 2. Telson de un ejemplar de *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879) con una gota de su veneno.

Los síntomas de intoxicación por picadura de alacrán se deben principalmente a la presencia de péptidos moduladores de canales iónicos de sodio, calcio y potasio, los cuales alteran la función de dichos canales de los tejidos excitables, principalmente nerviosos y musculares. Debido a la composición variable de los péptidos presentes en los venenos de escorpión, se espera que las diferentes especies de escorpiones contengan componentes activos seleccionados de diferentes maneras para capturar a sus presas o defenderse de los depredadores (Carcamo-Noriega y col., 2018; González-Santillán y col., 2018).

En los últimos años, se han realizado estudios transcriptómicos de las glándulas y proteómicos de los venenos de muchas familias de escorpiones. Los componentes de los venenos se han clasificado en: toxinas moduladoras de canales iónicos, enzimas, inhibidores de proteasas, péptidos de defensa del hospedero, y otras (Cid-Urbe y col., 2019).

Las **toxinas** de la familia *Buthidae* que actúan sobre canales de sodio y potasio actúan en sinergia para causar despolarización prolongada de la membrana celular, seguida de excitación neuronal que estimula los centros autónomos simpáticos y parasimpáticos del organismo, que provoca una liberación endógena masiva de acetilcolina, epinefrina y norepinefrina, que en última instancia provocan insuficiencia cardiaca, lesión al miocardio, edema pulmonar, insuficiencia respiratoria y shock cardiogénico. Los efectos sobre el sistema nervioso central son poco comunes y están relacionados

generalmente con el shock cardiogénico debido a que la mayoría de estas toxinas no atraviesan la barrera hematoencefálica (Cid-Uribe y col., 2019; Isbister y Bawaskar, 2014).

Las toxinas que modulan los canales de sodio se nombran como NaTx. Son péptidos de 58 a 76 aminoácidos, con tres a cuatro puentes disulfuro. Las toxinas NaTx se clasifican a su vez en α y β (α -NaTx y β -NaTx), dependiendo del sitio de unión y el efecto que producen en los canales de sodio dependientes de voltaje. Las α -NaTx se unen al sitio 3 de su receptor (segmento extracelular S3-S4 del dominio IV del canal), provocando una inactivación anormalmente retardada y generando aumento de la excitación neuronal. A su vez, este grupo puede subclasificarse de acuerdo con el hospedero donde ejercen su efecto como: α -NaTx clásicas (en mamíferos), α -NaTx anti-insectos (en insectos) y toxinas tipo α (en ambos) (Cetséle y Caterall, 2000; Zilberberg y col., 1997). Por otro lado, las β -NaTx se unen al sitio cuatro del receptor (segmento S3-S4 extracelular del dominio II del canal), atrapa el sensor de voltaje del canal, lo que cambia el umbral del voltaje requerido para su activación a potenciales más negativos. Este grupo también puede subclasificarse de acuerdo a su efecto, como: β -NaTx anti-mamífero (en mamíferos), β -NaTx excitatoria anti-insecto (induce activación repetitiva de los canales de Na⁺ de los insectos en nervios motores, que resulta en parálisis espástica), β -NaTx depresor anti-insecto (suprime potenciales de acción debido a una fuerte despolarización, la cual resulta en parálisis flácida), y β -NaTx anti-mamífero/insecto (compite con la β -NaTx anti-mamífero, β -NaTx excitatoria y depresora anti-insecto) (Cid-Uribe y col., 2019; Pedraza y Possani, 2013; Quintero-Hernández y col., 2013).

Se han identificado tres toxinas principales en el veneno del alacrán *C. limpidus*, denominadas como CII1, CII2 y CII13, que son capaces de afectar la función adecuada de los canales de sodio (López-Giraldo y col., 2020). Estas toxinas corresponden al 1.5 %, 3.5 % y 2.1 % del veneno, respectivamente, y su LD₅₀ es de 1.7 μ g, 1.5 μ g y 0.5 μ g, respectivamente. La toxina CII13 es más diversa en su secuencia en comparación con CII1 y CII2, así como también en su actividad en los canales de sodio dependientes de voltaje (Fernandez-Taboada y col., 2021; Olamedi-

Portugal y col., 2017).

Las toxinas moduladoras de canales de potasio (KTx) son inhibidores de canales de potasio, que pueden unirse a canales de potasio activados por voltaje o por calcio, o a canales de potasio rectificadores internos. Estas toxinas son péptidos de 23 a 78 aminoácidos, con dos a cuatro puentes disulfuro, y cuatro pliegues estructurales: CS- $\alpha\beta$, hélice-bucle-hélice estabilizada con cisteína (CS- α/α), tipo Kunitz, y nudo de cistina inhibidor (ICK) (Mouhat y col., 2008).

Las toxinas moduladoras de canales de potasio se clasifican en familias, de acuerdo con la longitud de los péptidos:

- a) α -KTx: péptidos de 23 a 43 aminoácidos con 3 a 4 puentes disulfuro, que comparten el plegamiento CS- α/β . Esta familia se subdivide a su vez en 31 subfamilias. Inhiben los canales K_{v1} , K_{v4} , K_{Ca1} , K_{Ca2} , K_{Ca3} y K_{ir1} (Cid-Uribe y col., 2019; Tytgat y col., 1999).
- b) β -KTx: péptidos de 47 a 78 aminoácidos, con tres puentes disulfuro y comparten el plegamiento CS- α/β . Esta familia se subdivide en cuatro subfamilias e inhiben los canales K_{v1} y $K_{v4.2}$ (Cid-Uribe y col., 2019).
- c) γ -KTx (ergtoxinas): son péptidos de 36 a 43 aminoácidos con tres a cuatro puentes disulfuro, que comparten el pliegue CS- α/β . Se subdivide en cuatro subfamilias y bloquean el canal K_{v11} (Gurrola y col., 1999).
- d) δ -KTx: son péptidos de 59 a 70 aminoácidos, con tres a cuatro puentes disulfuro, que comparten un pliegue inhibidor de proteasa de serina tipo Kunitz. Se subdivide en tres subfamilias. Tienen actividad dual como inhibidores de serin- proteasas y bloqueadores de los canales $K_{v1.3}$ (Chen y col., 2012).
- e) ϵ -KTx: péptidos de 29 aminoácidos con cuatro puentes disulfuro que comparten el plegamiento ICK. Solo se conoce una subfamilia. Inhiben con baja afinidad a los canales K_{v1} , K_{v4} , K_{v10} y K_{v11} (Cremonoz y col., 2016).
- f) κ -KTx (hefutoxinas): péptidos de 23 a 28 aminoácidos con dos puentes disulfuro, y presentan el doblamiento CS- α/α . Se subdivide en cinco subfamilias y tienen baja afinidad a los canales K_{v1} (Moreels y col., 2017).
- g) ι -KTx: péptidos de 37 a 39 aminoácidos con tres puentes disulfuro y comparten el

doblamiento ICK. Se subdivide en dos subfamilias y tienen baja afinidad por los canales K_{v11} (Chen y col., 2011).

Se han aislado dos toxinas α -KTx del veneno de *Centruroides limpidus*, las cuales se han nombrado como ClITx1 y ClITx2, pertenecen a la subfamilia dos (2.3 y 2.7, respectivamente), y se ha demostrado que afectan la permeabilidad de las células granulares cerebrales y desplazan la unión de la noxiustoxina a los sinaptosomas del cerebro de rata (Martin y col., 1994; Tytgat y col. 1999). Se han identificado también cuatro toxinas de la familia γ -KTx, las cuales se han nombrado como ClIErg1-4, y su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de canales ERG K^+ (Corona y col., 2002). Las **enzimas** que se encuentran en el veneno favorecen la biodistribución de los componentes del veneno y poseen modificaciones postraduccionales, como amidación de los péptidos, que mejoran su función y aumentan su estabilidad (Cid-Urbe y col., 2019).

En el veneno de *C. limpidus* se ha encontrado una enzima de tipo serin-proteasa, la cual se nombra como CliEnzSep01. Su función se basa en hidrolizar enlaces peptídicos, y se caracterizan por tener una triada catalítica de His, Asp y Ser, actuando este último residuo como centro nucleofílico, que permite la ruptura del enlace peptídico (Cid-Urbe y col., 2019).

Se han encontrado también enzimas de tipo metaloproteasas, las cuales cuentan con un mecanismo catalítico que requiere de un metal, principalmente zinc. Se han encontrado cuatro de ellas en análisis proteómicos del veneno, y se nombran como CliEnzMet15, 19, 20 y 21 (Cid-Urbe y col., 2019).

Las fosfolipasas son enzimas que generan mediadores lipídicos implicados en inflamación persistente, fuga vascular, agregación plaquetaria, dermonecrosis, hemólisis y hematuria, que en casos graves puede conducir a insuficiencia cardio-respiratoria, renal y hepática (Aloulou y col., 2018). Se han encontrado siete transcritos codificantes en estudios transcriptómicos de la glándula de *C. limpidus*, peroninguno en los análisis proteómicos de su veneno, aunque sí se encuentran distribuidas en otras especies de las familias Hemiiscorpidae, Chactidae, Buthidae y Scorpionidae. Este grupo de enzimas se nombran como CliEnPA201 a la 206, y CliEnzPLD01 (Cid-

Uribe y col., 2019).

El veneno de alacrán también contiene hialuronidasas, que son enzimas encargadas de hidrolizar ácido hialurónico y sulfato de condroitina, y funciona como factor de dispersión de los componentes del veneno (Ribeiro y col., 2019). Solo se ha encontrado una enzima de tipo hialuronidasa en el veneno de *C. limpidus*, la cual se nombra como CliEnzHya01 (Cid-Uribe y col., 2019).

Por último, se sabe que el veneno también puede contener nucleotidasas, cuya función es catalizar la hidrólisis de 5'-nucleótidos (Dhananjaya y Souza, 2010). Se han encontrado tres transcritos en la glándula de *C. limpidus*, que se nombran como CliEnz5Nuc01 a la 03, pero aún no se han identificado en los análisis proteómicos de su veneno (Cid-Uribe y col., 2019).

Otro componente indispensable en el veneno de los alacranes son los **inhibidores de proteasas**, pues previenen la degradación del veneno por las enzimas presentes en los tejidos de la presa, incrementando así la efectividad de los venenos (Ma y col., 2016). Solo se han encontrado tres inhibidores de proteasas en los proteomas de *C. limpidus* y *H. spadix*. Estos se clasifican de acuerdo con la longitud de su estructura como:

- a) Péptidos similares a inhibidores de tripsina ricos en cisteína (TIL): son péptidos de 60 a 70 aminoácidos, que contienen un pliegue estructural que consta de cuatro cadenas β dispuestas en dos hojas β antiparalelas estabilizadas por cinco puentes disulfuro. Son inhibidores de serin-proteasas (Zaho y col., 2011).
- b) Inhibidores tipo Kunitz: péptidos de 50 a 60 aminoácidos y tres puentes disulfuro, con el dominio inhibidor de tripsina pancreática Kunitz/bovina. Son inhibidores de proteasas (Zaho y col., 2011).
- c) Serpinas: son cadenas de 300 a 500 aminoácidos con un dominio serin-proteasa. Son inhibidores de proteasas (Law y col., 2006).

Los venenos contienen también **péptidos de defensa del hospedero** (HDP), que generalmente son péptidos antimicrobianos. Constan de una longitud de cinco a 100 aminoácidos y están presentes en todos los organismos vivos (Boto y col., 2018). Se clasifican en las siguientes categorías:

- a) Familia 1-5: péptidos sin puentes disulfuro (NDBP), que se subclasifican de

acuerdo con la longitud de su estructura (Almaaytah y Albalas, 2014):

- NDBP-1: de 13 a 21 aminoácidos. Inhiben a la enzima convertidora de angiotensina.
 - NDBP-2: de 41 a 56 aminoácidos. Constan del dominio antimicrobiano 7.
 - NDBP-3: de 24 a 29 aminoácidos. Tienen actividad antimicrobiana contra bacterias gran positivas y negativas, así como también en hongos.
 - NDBP-4: de 13 a 19 aminoácidos. Son anfipáticos y tienen carga positiva. Tienen actividad antimicrobiana.
 - DNBP-5: péptidos antimaláricos de escorpión.
- b) Defensinas: son péptidos de 28 a 42 aminoácidos que son estabilizadas por 3 puentes disulfuro, con estructuras CS- $\beta\beta$ (α -defensinas) y CS- $\alpha\beta$ (β -defensinas) (Shafee y col., 2016).
- c) Péptidos aniónicos: de 5 a 70 aminoácidos cargados negativamente que participan en mecanismos innatos de defensa. Solo se han encontrado a nivel transcriptómico, pero aún no en el proteoma de los alacranes.
- d) Péptidos tipo Waprinas: de 50 aminoácidos estructuralmente homólogos a la familia WAP y los inhibidores de tipo Kunitz (Cid-Uribe y col., 2019).

2.2.2 Escorpionismo e Intoxicación por picadura de alacrán

El escorpionismo es un problema de Salud Pública, que reporta más de 1,200,000 picaduras y 3250 muertes anuales a nivel mundial, con una incidencia de 526 por cada 100 mil personas (Trinidad-Porfirio y col., 2023). México ha reportado índicesaltos de escorpionismo con una incidencia de 233.64 por cada 100 mil habitantes, siendo los estados de Colima, Nayarit, Morelos y Guerrero aquellos que reportan más incidentes (Trinidad-Porfirio y col., 2023).

La intoxicación por picadura de alacrán (IPPA) es el estado de envenenamiento por la inoculación de veneno de alacrán mediante la picadura de este arácnido. En México, es ocasionada por los alacranes del género *Centruroides*, y desde el 2008 hasta el 2020 se han registrado hasta 319 mil casos de IPPA por año, por lo cual es prioritario para la salud pública del país (Castañeda-Gómez y col., 2020). Algunas de las

especies de este género se encuentran en las zonas del centro y sur del país, como en el Estados de México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro y Jalisco (González- Santillán y col., 2018). La mayoría de los accidentes ocurren en poblaciones rurales, en el hogar y durante la noche. Las condiciones precarias de vivienda y caminar descalzo por la noche favorecen a estos eventos. Los hombres tienen mayor frecuencia a estos accidentes, y la salud de los menores de 15 años es la más afectada, con cuadros clínicos más graves en niños de cinco a nueve años (Silva-Domínguez y col., 2019).

Dependiendo de la potencia, concentración y cantidad del veneno inyectado, los accidentes con estas especies pueden provocar grandes consecuencias en las personas que han sido picadas, incluso la muerte. En el Cuadro 1, se muestran los síntomas que se han reportado en la intoxicación por picadura de alacrán.

Cuadro 1. Síntomas de intoxicación por picadura de alacrán (Carcamo-Noriega y col., 2018; González-Santillán y col., 2018; Secretaria de Salud, 2012).

Leves	Moderados	Severos
Dolor local, parestesia local, eritema local, edema local.	Sialorrea, parestesia general, distensión abdominal, fasciculaciones, disnea, dolor retrosternal, angustia, irritabilidad, prurito nasal, bucal y faríngeo, disfagia, sensación extraña en la garganta, calambres.	Disfagia, nistagmus, convulsiones, vómito, marcha atáxica, ceguera transitoria, presión alta, priapismo, irritación vaginal, edema pulmonar agudo, náuseas, taquicardia o bradicardia, amaurosis temporal, disnea.

En México, la Secretaría de Salud indica que el tratamiento para la intoxicación por picadura de alacrán en las regiones con especies de importancia médica, es imprescindible como tratamiento inicial la aplicación del suero antialacrán por vía

intravenosa, en todo paciente menor de cinco años aunque no presente signos y síntomas de la intoxicación; y de igual manera en todos aquellos pacientes mayores que presenten signos y síntomas de la intoxicación por picadura de alacrán. El tratamiento sintomático se basa en el uso de analgésicos y antipiréticos como el paracetamol o metamizol; anestésicos locales como la procaína o clorhidrato de lidocaína; tranquilizantes como el diazepam; antieméticos como la metoclopramida; hipotensores como el prazosin; diuréticos como la furosemida; anticolinérgicos como la atropina; e insulina (Secretaría de Salud, 2012).

El suero antialacrán o antiveneno para la picadura de alacranes que se comercializa en México se llama "Alacramyn". Está compuesto por fragmentos $F_{(ab)2}$ de inmunoglobulinas de equino, y se produce mediante la hiperinmunización de caballos con los venenos de las cuatro especies más tóxicas de escorpiones de México para los humanos: *C. limpidus*, *C. infamatus*, *C. noxius* y *C. suffusus*. Un inconveniente que se presenta a menudo tras el uso del antiveneno, es la necesidad de aplicación de múltiples dosis del faboterápico, lo cual puede provocar vasodilatación, inflamación, anafilaxia o formación de agregados que se depositan en tejidos y órganos (Chippaux y Goyffon, 1991; Chippaux, 2012; Fernández-Taboaday col., 2021).

2.3 Medicina tradicional

Desde tiempos muy antiguos, los humanos han usado recursos de la naturaleza, como plantas para tratar distintos malestares como enfermedades infecciosas respiratorias, gastrointestinales, urinarias y del sistema biliar, o algunos desórdenes como ansiedad o depresión (López-Rubaclava y col., 2016, Sharma y col., 2017). Actualmente se han implementado también como suplementos en la dieta, en bebidas energizantes, multivitamínicos, masajes y en productos para la pérdida de peso (Cruz y col., 2017). Por otro lado, los productos derivados de la fauna también se usan para tratar diversos padecimientos. Por ejemplo, en China se usan más de 1,500 animales con fines medicinales, en la India del 15 - 20% de la medicina Ayurvédica se basa en sustancias derivadas de animales, y en Brasil se reconoce el uso de 326 especies animales con

propósitos medicinales (Alonso-Castro, 2014).

La investigación de plantas medicinales se considera como un enfoque viable para descubrir nuevos compuestos con actividad biológica deseada para resolver problemas de salud pública. Es por ello que se considera importante la identificación de sus constituyentes bioactivos, así como la preparación segura, eficiente y estandarizada de fitomedicamentos (Sharma y col., 2017). Alrededor del 60% de los medicamentos comercializados se basan en compuestos bioactivos originados de productos naturales, y a su vez, estos han llegado al mercado debido a los estudios científicos sobre los remedios naturales que se usan tradicionalmente en varias culturas alrededor del mundo (Alonso-Castro, 2014).

La medicina tradicional mexicana se basa principalmente en el uso de las plantas, y muchas de ellas son consideradas parte del patrimonio cultural mexicano desde la época prehispánica y colonial (Luna-Vázquez y col., 2018). En México, los remedios herbales se usan comúnmente a pesar de la falta de soporte científico sobre su uso, dosificación y efectos (Cruz y col., 2017; Martínez-Alva y col., 2022).

2.4 Género *Ipomoea* L.

El género *Ipomoea* tiene aproximadamente entre 500 y 600 especies, y está conformado principalmente por plantas herbáceas trepadoras o rastreras, y rara vez por plantas leñosas. Se caracterizan por tener láminas foliares cordadas y corolas campanuladas a tubulares. Se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales de los países de Centro y Sudamérica, y en territorios tropicales de África. Muchas de sus especies tienen importancia económica, agrícola, en la medicina tradicional y algunas son usadas como plantas rituales (Meira y col., 2012).

Las propiedades farmacológicas de las especies del género *Ipomoea* se atribuyen a la presencia de resinas de glicósidos (Figura 3), las cuales son mezclas de glicolípidos de alto peso molecular anfipáticos, con un oligosacárido (porción hidrofílica) y por otro lado, con un ácido graso de 16 o 17 carbonos monohidroxilado (porción hidrofóbica) formando una macrolactona (Corona-Castañeda y col., 2013).

Diversos estudios han demostrado que algunas especies de *Ipomoea* tienen efectos antimicrobianos, analgésicos, espasmolíticos, espasmogénicos, hipotensores, anticancerígenos, antiinflamatorios, antinociceptivos (Corona-Castañeda y col., 2013; Giovannini y col., 2017; Meira y col., 2012). Algunas especies se usan por sus propiedades anti-veneno, por ejemplo; *I. pes-caprae* se emplea para tratar picaduras de cnidarios. Su fitoquímica se ha estudiado desde 1950, y los constituyentes biológicamente activos más comunes son: alcaloides ergolínicos, alcaloides no tropánicos, alcaloides de indolizidina, compuestos fenólicos, cumarinas, norisoprenoides, diterpenos, isocumarinas y benzenoides, flavonoides y antocianosoides, glicolípidos, lignanos y triterpenos (Meira y col., 2012).

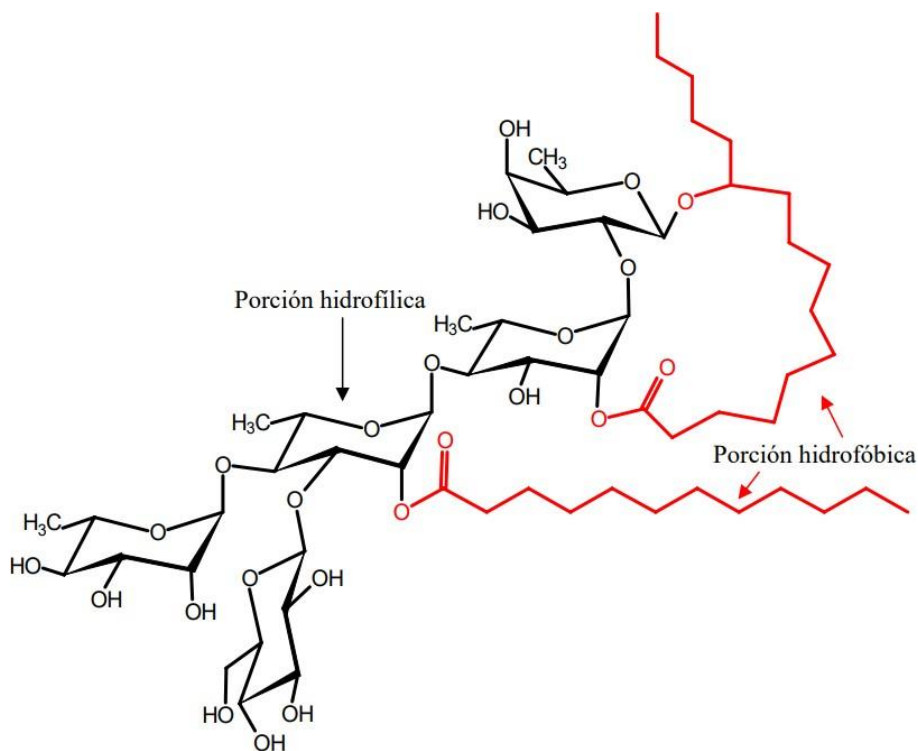


Figura 3. Estructura química de una resina glicosídica característica de *Ipomoea* (Linnaeus) (Chérigo, 2007).

2.5 *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

Ipomoea murucoides es un árbol de hasta 13 m de altura, tronco de hasta 40 cm de diámetro, látex blanco abundante, tallos flocos con tricomas blancos. Hojas pecioladas, lanceoladas, oblongo- lanceoladas a ovadas, acuminadas, base ampliamente cuneada, generalmente vellosas o pubescentes cuando son jóvenes, algo glabrescentes; pecíolos de uno a seis cm, tomentosos, glabrescentes. Inflorescencia terminal o de las axilas de las hojas superiores, de estructura laxamente corimbosa; pedúnculos de 0.3 a 2 cm, vellosos; bractéolas ovadas, obtusas de 10 a 15 por cinco a 10 mm, caducas; pedicelos de 1.5 a cinco cm, engrosados hacia arriba, más densamente tomentosos que los pedúnculos; sépalos ligeramente desiguales, de 14 a 28 por nueve a 20 mm, oblongos-ovados, obtusos a subagudos, blanco-tomentosos, el interior ligeramente más corto pero más densamente tomentoso; corola de seis a nueve cm de largo, en forma de embudo, blanca con garganta de color rojo opaco, vellosa; extremidad de 5 cm de diámetro, ondulado. Cápsulas de dos a 2.5 cm de largo, oblongas-elipsoideas, glabras; semillas de 12 por 5 mm, pilosas en los márgenes con pelos de 10 a 15 mm de largo (Wood y col., 2020).

Crece en zonas tropicales del centro y sur de México, a una altura entre 600 y 2000 metros sobre el nivel del mar (Flores-Palacios y col., 2015; León-Rivera y col., 2017). Forma parte de matorrales áridos abiertos, sobre pendientes rocosas o planas. Su época de floración es de octubre a abril, y pierde sus hojas de noviembre a diciembre (Chérigo, 2007). En la Figura 4 podemos apreciar en a) un ejemplar de árbol, b) una flor y c) semillas de *I. murucoides*. Los nombres comunes de *I. murucoides* son: cazahuate, cazahuate negro, micaquáhuatl, ozote, palo bobo, árbol de venado, palo blanco, palo santo, siete camisas, siete pellejos, toche, palo flojo, palo de muerto (Flores-Palacios y col., 2015; León-Rivera y col., 2017).



Figura 4. Ejemplar de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.: a) ejemplar de árbol, b) una flor y c) semillas.

2.5.1 Usos tradicionales de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

Dentro de sus usos tradicionales en la cultura mexicana, la madera quemada del árbol de *Ipomoea murucoides* se usa para ahuyentar a los mosquitos. Las infusiones de sus hojas y flores se usan para tratar los efectos inflamatorios de la picadura de alacrán y serpiente, así como para tratar también picazón, erupciones, inflamación, caída del cabello, reumatismo, infecciones y dolor de muelas (León-Rivera y col., 2017; Meira y col., 2012).

Hasta la fecha, no se cuenta con evidencia científica que respalde los efectos de su uso tradicional para tratar la intoxicación por picadura de alacrán, pero se ha reportado que otras especies del género *Ipomoea*, como *I. aquatica* e *I. pes-caprae*, también se usan para tratar el envenenamiento por escorpión, serpiente, peces venenosos, rayas y anémonas (Meira y col., 2012), como se describe a continuación:

El grupo de Krogh y colaboradores (1999) encontró algunos constituyentes de *Ipomoea pes-caprae* como el acetato de α - y β -amirina, ácido betulínico y glochidona, mostraron efectos antinociceptivos en ratones (Figura 5). Otro estudio en ratones con

extractos metanólicos de *I. pes-caprae* mostraron actividad antinociceptiva en modelos animales para el estudio de dolor neurogénico e inflamatorio (Souza y col., 2000). En otros estudios, se ha demostrado un efecto en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas *in vitro*, el cual es mediado por las siguientes moléculas identificadas: 3,4-dihidro-8-hidroxi-3-metilisocumarina, eugenol, 4,4,7-trimetil-1,4-dihidro-2-hidroxi-1-naftalenona y 4-vinilguaiacol (Pongprayoon^{1,2} y col., 1991).

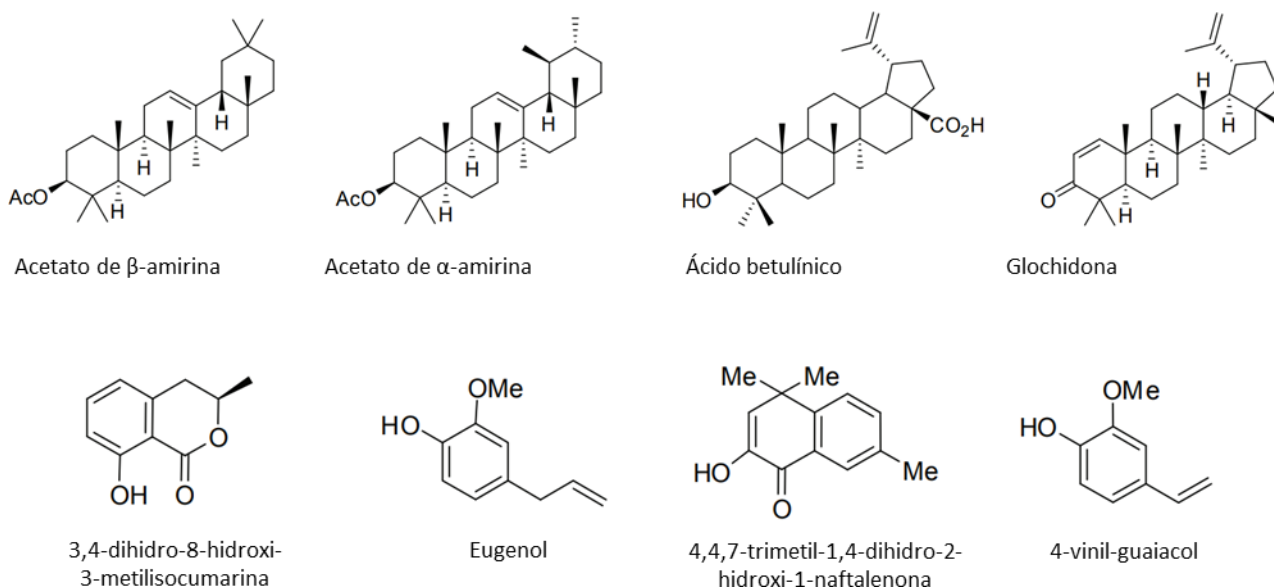


Figura 5. Compuestos identificados en *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. con actividad antinociceptiva e inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (Tomado de Meira y col., 2012).

Tseng y colaboradores (1986) aislaron los compuestos N-cis-feruloiltiramina y N-trans-feruloiltiramina de *Ipomoea aquatica* Forssk y también demostraron que estos tienen efectos sobre la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

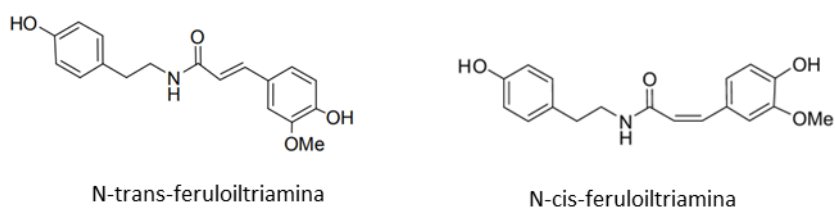


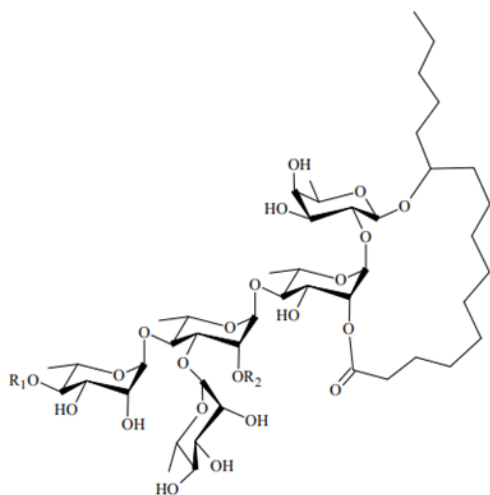
Figura 6. Compuestos identificados en *Ipomoea aquatica* Forssk con efecto en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas (Tomado de Meira y col., 2012).

2.5.2 Perfil fitoquímico de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

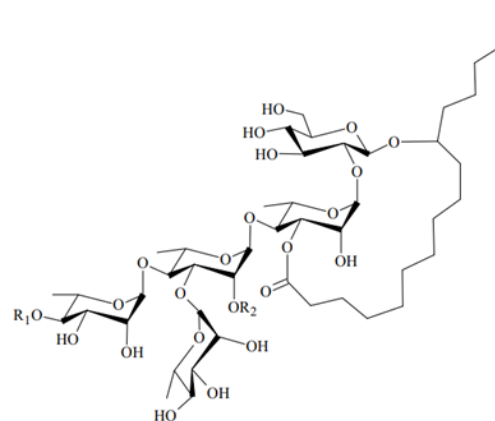
Se han identificado 18 glicolípidos a partir de las hojas de *I. murucoides*, los cuales se nombraron como murocoidinas. Estas se clasifican de acuerdo al oligosacárido en su núcleo (Cuadro 2 y Figuras 7 y 8).

Cuadro 2. Clasificación estructural de las murocoidinas (Chérigo 2007).

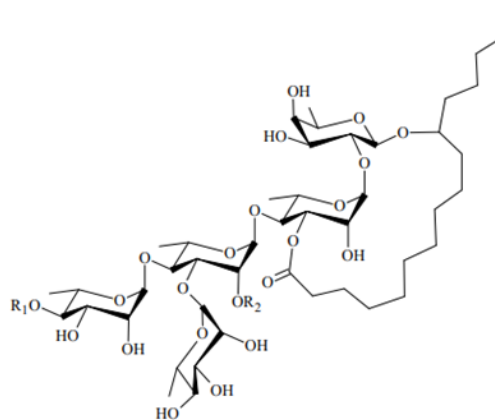
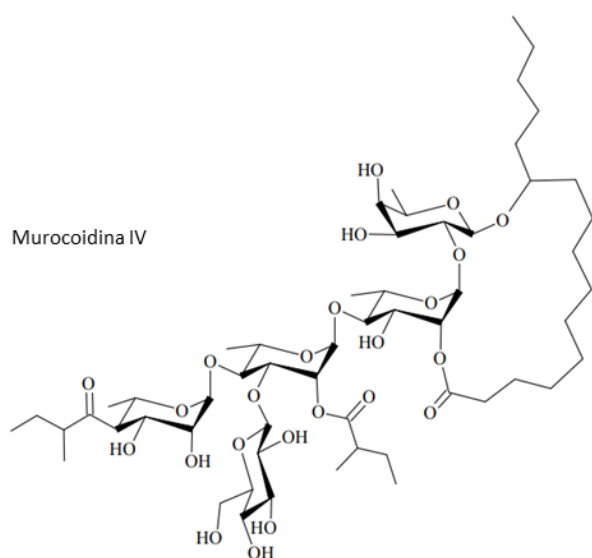
Núcleo oligosacárido	Murocoidina	Posición de la lactona
Ácido simónico B	I - III	En C2 de la segunda unidad sacárida
	IX, X, XVIII	En C3 de la segunda unidad sacárida
Ácido simónico A	VI, VII, VIII	-
Ácido operculínico A	IV	En C2 de la segunda unidad sacárida
	V, XI, XVII	En C3 de la segunda unidad sacárida
Ácido operculínico C	XIV	En C3 de la segunda unidad sacárida
	XV, XVI	En C2 de la segunda unidad sacárida
Ácido operculínico E	XII, XIII	-



Murucoidina	R ₁	R ₂
I	H	Ácido 2-metilbutanóico
II	Ácido 2-metilpropanóico	Ácido 2-metilbutanóico
III	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido 2-metilbutanóico

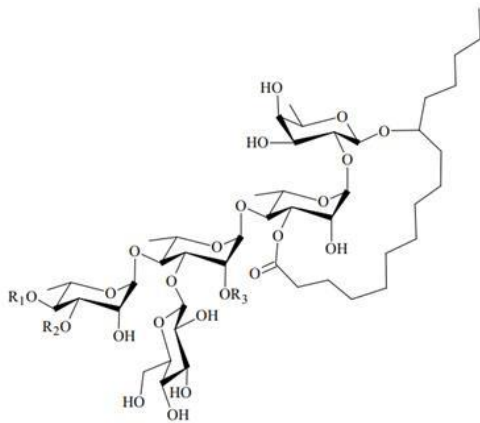


Murucoidina	R ₁	R ₂
VI	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido dodecanóico
VII	Ácido 2-metilpropanóico	Ácido 2-metilbutanóico
VIII	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido 2-metilbutanóico

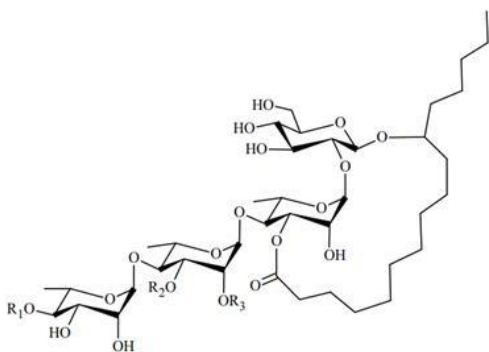
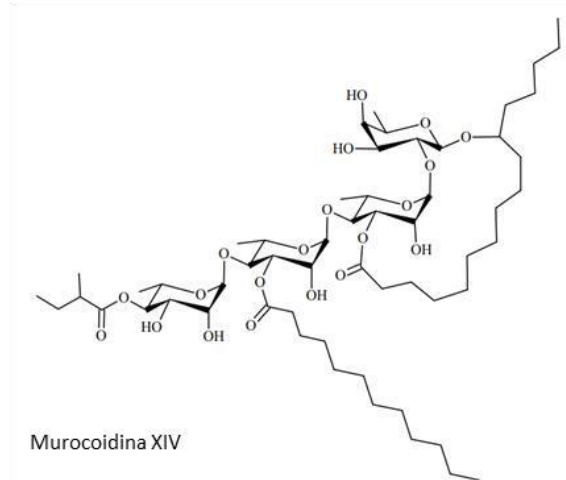


Murucoidina	R ₁	R ₂
IX	Ácido 2-metilpropanóico	Ácido 2-metilbutanóico
X	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido 8-hidroxidodecanóico
XVIII	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido octanóico

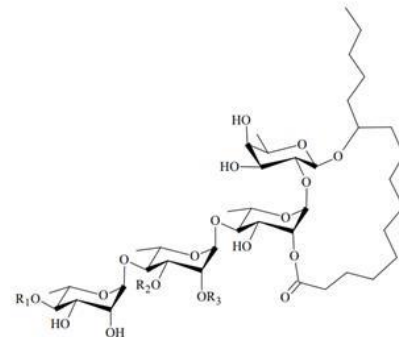
Figura 7. Estructura química de las murucoidinas I – IV, VI – X, y XVIII (Tomado de Corona-Castañeda, 2008).



Murucoidina	R ₁	R ₂	R ₃
V	Ácido 2-metilbutanóico	H	Ácido 2-metilbutanóico
XI	Ácido 2-metilbutanóico	H	Ácido dodecanóico
XVII	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido cinámico	Ácido 2-metilbut



Murucoidina	R ₁	R ₂	R ₃
XII	Ácido 2-metilbutanoilo	Ácido dodecanóico	H
XIII	Ácido 2-metilbutanoilo	H	Ácido dodecanóico



Murucoidina	R ₁	R ₂	R ₃
XV	Ácido 2-metilbutanóico	Ácido 2-metilbutanóico	H
XVI	Ácido 2-metilbutanóico	H	Ácido 2-metilbutanóico

Figura 8. Estructura química de las murucoidinas V y XI-XVII (Corona-Castañeda, 2008).

Las murucoidinas XVII-XIX ejercen un efecto de potenciación sobre los antibióticos clínicamente útiles al aumentar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006; Chérigo y col., 2008; Corona-Castañeda y col., 2013). El extracto metanólico ácido de las hojas de *I. murucoides* demostró tener actividad antifúngica contra *Fusarium solani* y *Alternaria alternata* en un estudio

realizado por De Lira y colaboradores en 2014.

Por otro lado, se han aislado glicorresinas de las raíces de *Ipomoea murucoides*, llamadas murucinas 1-5, las cuales constan de un pentasacárido en su estructura (León y col., 2005) (Figura 9). La murucina 1 presenta actividad citotóxica contra carcinoma de ovario (Meira y col., 2012).

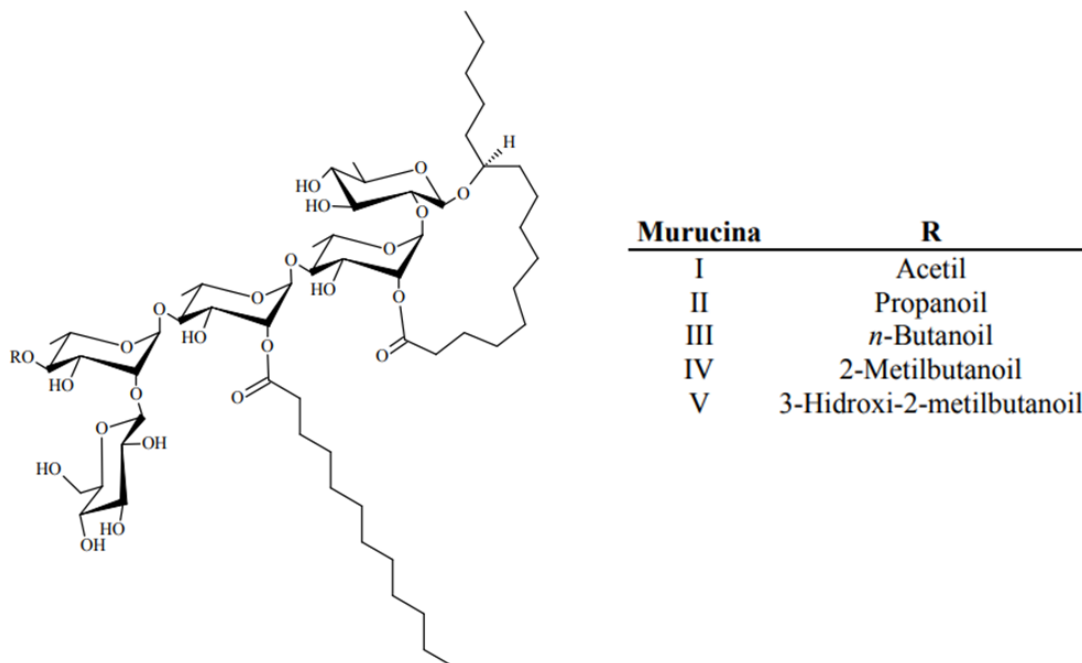


Figura 9. Estructura química de las murucinas I – V (Tomado de Corona-Castañeda, 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

México es uno de los países con mayor incidencia por picadura de alacrán a nivel global, y a pesar de que se cuenta con antídoto para tratar el estado de intoxicación, este no siempre es efectivo o no está disponible en todos los centros de salud del país, por lo cual la población está en riesgo de no recibir un tratamiento oportuno. Es por ello que la investigación de nuevos antídotos en plantas con usos en la medicina tradicional es una gran área de oportunidad para descubrir nuevos tratamientos para los envenenamientos por picaduras y mordeduras de animales venenosos. Este trabajo de tesis se basa en buscar un soporte científico que respalde el uso de las infusiones de las hojas y flores del Cazahuate en la medicina tradicional mexicana como tratamiento para la intoxicación por picadura del alacrán *Centruroides limpidus*.

4. HIPÓTESIS

Los extractos de diclorometano, etanol y acuoso, obtenidos a partir de las hojas y flores de *Ipomoea murucoides*, inhiben algunos de los principales efectos tóxicos inducidos por el veneno del alacrán *Centruroides limpidus*, como inflamación y contracciones en íleon, y enzimáticos de fosfolipasa A₂ y de hialuronidasa.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de los extractos de diferentes polaridades de las hojas y flores de *Ipomoea murucoides* contra los efectos tóxicos del veneno del alacrán *Centruroides limpidus*.

5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Obtener los extractos de diclorometano, etanol y agua, de las hojas y flores de *I. murucoides*.

5.2.2 Evaluar el efecto anti-inflamatorio de los extractos de *I. murucoides* sobre el efecto inflamatorio del veneno de *C. limpidus*.

5.2.3 Evaluar el efecto del veneno de *C. limpidus* en presencia y ausencia de los extractos de *I. murucoides* sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislado de rata.

5.2.4 Determinar la capacidad de los extractos de *I. murucoides* para inhibir las actividades enzimáticas de fosfolipasa A₂ y hialuronidasa del veneno de *C. limpidus*.

6 METODOLOGÍA

6.1 Animales de experimentación

Los animales de experimentación se obtuvieron del Bioterio del Instituto de Neurología de la UNAM, campus Juriquilla, Querétaro. En este estudio, se utilizaron 3 ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 250 g de peso, por grupo, siendo 21 ratas en total, las cuales se adquirieron conforme se requirieron en las distintas etapas del proyecto. Se mantuvieron en un periodo de climatización por cinco días, en un espacio especial para mantenimiento de animales de experimentación en el Bioterio de la Facultad de Química de la UAQ, que cuenta con equipo para el control del medio ambiente de acuerdo con las especificaciones de la NOM-052-ZOO-199. Los animales se contuvieron en jaulas de acrílico con agua y alimento ABENE BDL-7100 ad libitum, cuya limpieza se realizó cada dos días. Una vez concluidos los ensayos se indujo la eutanasia de las ratas en un ambiente de CO₂ (NOM-062-ZOO-1999). Los Residuos Biológico-Infeciosos (RPBI) se etiquetaron y almacenaron de acuerdo a la NOM-087-SSA-2002. Los cadáveres se contuvieron en bolsas amarillas a -20°C, y los punzocortantes en contenedores rojos especiales para este fin. Los residuos químicos se manejaron y almacenaron de acuerdo a la NOM-005-stps-1998. Esto por un periodo no mayor a 30 días, posteriormente se contrató un servicio especial para el procesamiento de estos residuos. Los residuos químicos fueron manejados y almacenados de acuerdo con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-005-stps-1998. De acuerdo con la clasificación de actividades experimentales de la NOM-062-ZOO-1999 (Apéndice A), el grado de molestia que se causó a los animales de investigación es de categoría D para la actividad anti-inflamatoria. Este proyecto fue autorizado por el comité de bioética, número de oficio CBQ23/115b.

6.2 Recolección del material vegetal y preparación de los extractos de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

Las hojas y flores de *Ipomoea murucoides* se colectaron en el área natural del campus

Juriquilla de la Facultad de Ciencias Naturales y de las jardineras de la Facultad de Ingeniería campus Cerro de las Campanas de la Universidad Autónoma de Querétaro, en el municipio de Querétaro, Querétaro. En cada localidad se tomaron muestras de aproximadamente 40 cm de largo, que incluyeron hojas y flores. Esto con la finalidad de tener ejemplares botánicos de respaldo, los cuales fueron identificados con ayuda de bibliografía especializada y cotejados con los ejemplares botánicos depositados en el herbario “Dr. Jerzy Rzedowski” de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Los ejemplares resultantes fueron depositados en dicho herbario para su consulta futura (voucher número QMEX00015386).

Las hojas y flores se dejaron secar a temperatura ambiente y a la sombra durante dos semanas en un lugar ventilado. Una vez seco, se trituraron con un molino manual. El polvo obtenido se maceró por una semana, cambiando de solventes de polaridad creciente: diclorometano, etanol y agua. Los extractos con diclorometano y etanol se secaron a presión reducida mediante rotaevaporación, y el extracto acuoso se secó mediante liofilización. Los extractos secos se almacenaron en refrigeración a 4 °C.

6.3 Recolección y obtención del veneno de *C. limpidus* (Karsch, 1879)

Los especímenes adultos del alacrán *Centruroides limpidus* se mantuvieron en cautiverio en el Aracnario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. La identificación de la especie estuvo a cargo del el Biol. Luis Cuellar Balleza, responsable del Aracnario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. La extracción del veneno se realizó mediante estimulación eléctrica estandarizada para la extracción de veneno de tarántulas por Díaz-Peña y colaboradores (2019). Posteriormente, los venenos se almacenaron -70°C y la cantidad de proteínas totales del veneno se determinó por el método de BCA.

6.4 Evaluación del efecto anti-inflamatorio

Se empleó el ensayo de edema plantar por carragenina para evaluar la capacidad anti-inflamatoria de los extractos de *I. murucoides* (Mortari y col., 2012), donde se utilizaron 3 ratas macho Wistar de aproximadamente 250 gramos de peso, por grupo,

siendo 21 ratas en total. Los extractos de *I. murucoides* se administraron por vía oral en dosis de 1000 mg/kg en solución salina fisiológica estéril después de ayuno de 12 horas y por vía tópica con una pomada de petrolato al 2% (García y col., 2004). Treinta minutos después, se administraron 100 µl de λ -carragenina (Sigma-Aldrich 22049-5G-F) al 3% en solución salina fisiológica vía subcutánea en la superficie plantar de la extremidad trasera derecha como inductor de la inflamación. El control negativo fue un grupo al que solo se le administró solución salina fisiológica. Los grupos experimentales fueron administrados con 40 µg de proteína del veneno disuelta en 50 µl de solución salina fisiológica. Se midió el grado de inflamación, cada 30 minutos durante 2 horas, mediante la determinación del desplazamiento de volumen con un pletismómetro manual. Finalmente, se calculó el porcentaje de inhibición de la inflamación tomando en cuenta una actividad anti-inflamatoria moderada del 30 al 65%, y una actividad alta a valores superiores del 65%.

6.5 Evaluación en íleon aislado de rata

Se evaluó el efecto del veneno de *Centruroides limpidus* solo y con los extractos de *Ipomoea murucoides* en un modelo de íleon aislado de rata siguiendo el método reportado por Rojas y colaboradores (2002), con algunas modificaciones. Las ratas se sacrificaron por dislocación cervical para luego remover el íleon que se cortó en segmentos de 1 cm, posteriormente los tejidos se montaron en cámaras con solución de Krebs-Henseleit (composición NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, NaHCO₃ 25 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, CaCl₂ 2.5 mM, MgSO₄ 1.2 mM, D-(+)-glucosa 11 mM), gaseado con 95% de O₂ y 5% de CO₂. Las contracciones del tejido se capturaron en un polígrafo. Los tejidos se dejaron estabilizando por 30 minutos. Se utilizó como control positivo acetilcolina 0.003 M y verapamilo 0.003 M como control negativo. El veneno de *Centruroides limpidus* se evaluó a una concentración de 20 µg/ml solo y con los extractos acuosos de las hojas y flores de *Ipomoea murucoides* a una concentración de 1000 µg/ml.

6.6 Evaluación de la inhibición de la actividad de fosfolipasa A₂

Se evaluó la actividad de fosfolipasa A₂ del veneno de *C. limpidus* mediante un ensayo colorimétrico estandarizado por García-Arredondo y col., (2016) en ausencia y presencia de los extractos de *Ipomoea murucoides* a concentraciones de 100, 200 y 300 µg/ml. Se utilizó el análogo 1,2- ditiodiheptanoilfosfatidilcolina como sustrato. Los tioles libres generados por la fosfolipasa del veneno, a través de la hidrólisis del enlace tioéster en la posición sn-2 fueron detectados utilizando el reactivo DTNB [(5,5'-ditio- bis-(ácido 2-nitrobenzónico)]. Como control positivo se utilizó una fosfolipasa A₂ de veneno de abeja. Posteriormente el cambio de color de las reacciones fue monitoreado con un lector de placas a 414 nm cada minuto por al menos cinco minutos. La actividad enzimática se expresó en µmol de sustrato hidrolizado/min/mg de proteína.

6.7 Evaluación de la inhibición de la actividad de hialuronidasa

Se evaluó la capacidad de los extractos de *Ipomoea murucoides* para inhibir la actividad de hialuronidasa del veneno. En primera instancia se evaluó la actividad de hialuronidasa del veneno de *C. limpidus* mediante el método turbidimétrico de Di Ferrante (1956) estandarizado por Rodríguez-Ríos y colaboradores (2017). Se usaron diferentes concentraciones de veneno (1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20 y 25 µg/ml) diluidas en 150 µl de amortiguador de acetatos (0.2 M de acetato de sodio con 0.15 M de NaCl, pH 6). Se utilizó como sustrato ácido hialurónico (sal de sodio de *Streptococcus equi*, Sigma-Aldrich) al 1% en amortiguador de acetatos. Las mezclas fueron incubadas durante 15 minutos a 37 °C y posteriormente se detuvo la reacción adicionando 1 ml de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (BCTA) al 2.5% en NaOH al 2%, y se dejó reposar por 10 min. Después, se midió la absorbancia en un lector de placas a 400 nm contra un blanco que contenía 0.5 ml de amortiguador de acetato de amonio 0.05 M a pH 6 y 1 ml de BCTA. La reducción de la turbidez se expresó como el porcentaje de ácido hialurónico restante, tomando la absorbancia de un tubo como 100% al que no se le agregó muestra ni enzima. Una unidad de turbidez (TRU) se expresará como la cantidad de enzima requerida para hidrolizar el 50% del ácido hialurónico. Como

control se tomó una hialuronidasa de testículo bovino tipo IV-S (Sigma- Aldrich). Para evaluar el efecto inhibitorio de los extractos de *I. murucoides* sobre la actividad de hialuronidasa del veneno de *C. limpidus*, se realizó el ensayo de hialuronidasa descrito anteriormente con una previa incubación de veneno (20 µg/ml) en presencia de cada extracto (100, 200 y 300 µg/ml) durante 30 min a 37 °C. Finalmente, se determinó el porcentaje de inhibición de la actividad de hialuronidasa. Al igual que en los ensayos anteriores, se utilizó dimetilsulfóxido a una concentración final no mayor al 0.2 % o etanol a una concentración final no mayor al 5 % para ayudar a disolver los extractos.

6.8 Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism versión 5.00 para Windows (San Diego California, USA) para el análisis de los datos obtenidos. Los datos se expresaron como la media de cinco repeticiones \pm el error estándar de la media. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante un análisis de varianza de una o dos vías según corresponda, seguido de un análisis post-hoc de Dunnet.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Recolección del material vegetal y preparación de los extractos de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

Se establecieron tres grupos de estudio de los extractos de hojas y flores de *Ipomoea murucoides*: Grupo 1: hojas, Grupo 2: flores, Grupo 3: hojas y flores; los cuales constaban de 300 gramos de material vegetal seco y triturado, que posteriormente se sometieron a maceraciones consecutivas con 2,400 ml de diclorometano, etanol y agua. Una vez filtrados, los extractos orgánicos se secaron a presión reducida y los extractos acuosos por liofilización. En el Cuadro 3 se pueden observar los rendimientos obtenidos para cada grupo de extractos.

Cuadro 3. Rendimientos de los extractos de diferentes polaridades de hojas y flores. de *Ipomoea murucoides* Roem. & Shult.

Disolvente	Grupo 1: Hojas	Grupo 2: Flores	Grupo 3: Flores y Hojas
Diclorometano	3.93 %	4.93 %	6.71 %
Etanol	3.05 %	5.47 %	7.57 %
Agua	4.93 %	3.91 %	10.16 %

7.2 Recolección y obtención del veneno de *C. limpidus* (Karsch, 1879)

Se colectaron 210 ejemplares adultos de *Centruroides limpidus*, que mediante estimulación eléctrica se extrajo su veneno, el cual se recolectó en capilares, que posteriormente fueron lavados con agua grado HPLC para recuperar el veneno, se congeló y se liofilizó. La concentración de proteínas se determinó mediante el método de BCA, obteniendo como resultado un total de 19.84 mg de proteína.

7.3 Evaluación del efecto anti-inflamatorio

Mediante el ensayo de inflamación de edema plantar por carragenina, se observó que el veneno produce un efecto inflamatorio significativo. En la Figura 10, se puede apreciar el efecto inflamatorio producido por el veneno de *C. limpidus* solo y con la administración de los extractos de *I. murucoides*.

Los extractos acuosos de los grupos de hojas, flores, y la combinación de flores y hojas, evaluados por vía oral, disminuyen significativamente la inflamación a partir de los 30 minutos. El extracto acuoso de las hojas, evaluado por vía tópica, no disminuye significativamente la inflamación. El extracto etanólico de las hojas evaluado por vía tópica disminuye inflamación significativamente a partir de los 90 min.

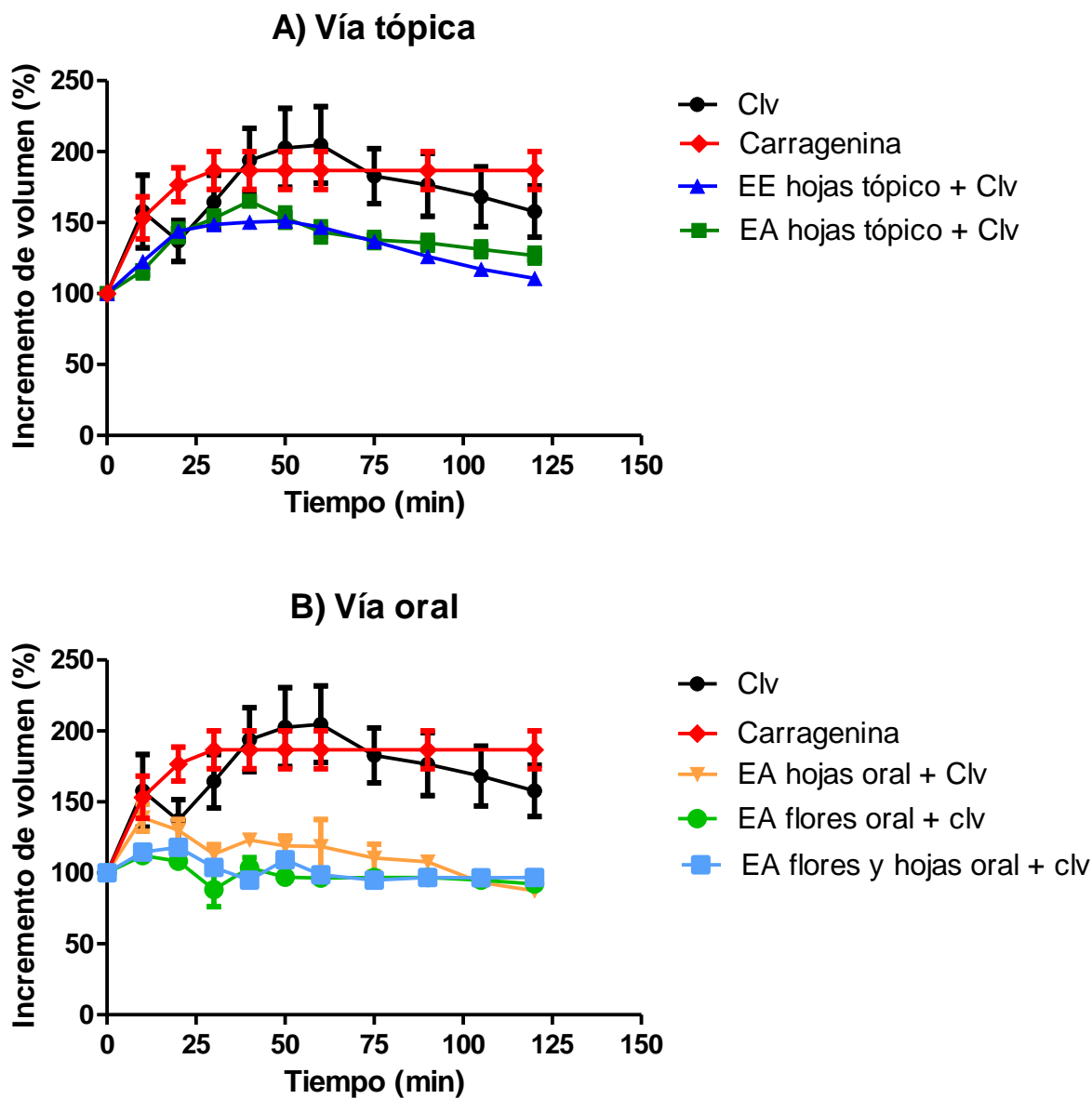


Figura 10. Ensayo de edema plantar que muestra el efecto inflamatorio del veneno de *C. limpidus* (Clv) solo y con la aplicación de los extractos de las hojas de *I. murucoides* por vía tópica (A) y oral (B). Se muestra el efecto de la carragenina al 1% (100 μ l) como control. EA = extracto acuoso, EE = extracto etanólico. *Diferencias significativas mediante ANOVA de una vía seguido de un análisis de Dunnett ($P < 0.05$).

Los resultados favorables tras la administración oral de los extractos acuosos de los tres grupos evaluados (hojas, flores y combinación de flores y hojas) concuerdan con

el uso tradicional que se le da a la planta a través de infusiones de las hojas y flores para tratar las intoxicaciones por picadura de alacrán en la medicina tradicional mexicana (León-Rivera y col., 2017; Meira y col., 2012). Cabe destacar que hasta el momento no hay ningún estudio científico publicado que respalde el uso tradicional de esta planta en particular para tratar las intoxicaciones por picadura de alacrán. En este sentido, se publicó un estudio con otra especie del género *Ipomoea*, donde se prueban extractos de *Ipomoea asarifolia* Roem. & Schult. para neutralizar la inflamación inducida por el veneno de *Tityus serrulatus*, donde la administración intravenosa de 30 mg/kg un extracto acuoso de las hojas de esta especie disminuyó la inflamación producida por el estado de envenenamiento con 0.8 mg/kg de veneno del alacrán, por medio del conteo de leucocitos y algunas interleucinas (IL-6, IL-12 e IL-1beta) extraídas por lavado peritoneal (de Souza-Lima y col., 2014).

Por otro lado, el extracto etanólico de las hojas administrado por vía tópica en pomada redujo de manera significativa la inflamación a partir de los 90 min; a pesar de que no se reporta como uso tradicional la administración tópica de la planta para tratar la picadura de alacrán, se han estudiado otras plantas del mismo género, como lo es en un estudio realizado por el grupo de Xavier-Santos y colaboradores (2022) evaluaron por vía tópica un gel del extracto hidroetanólico de las hojas de *Ipomoea pes-caprae*, que destaca en la literatura por su uso tradicional para tratar picaduras de cnidarios y mordeduras de serpientes (Meyra y col., 2012), el cual demostró tener resultados anti-inflamatorios en el ensayo de edema plantar usando como inductor de la inflamación el veneno de la serpiente *Bothrops erythromelas* (Xavier-Santos y col., 2022).

7.4 Evaluación en íleon aislado de rata

En los ensayos de íleon aislado de rata se utilizaron como control de la contracción y relajación a la acetilcolina y verapamilo, respectivamente. Para esta sección solo se ensayó el extracto acuoso de las hojas de *Ipomoea murucoides* 1000 µg/ml (EA) debido a la disponibilidad de especímenes y tiempo. Se puede observar que la adición de este extracto no modificó significativamente la actividad de los segmentos de íleon.

Por otro lado, la aplicación del veneno de *Centruroides limpidus* (20 µg/ml) provocó la relajación del tono del tejido. Se puede observar que, al evaluar la mezcla de veneno a la misma dosis, previamente incubado con el extracto acuoso de *I. murucoides*, se induce un efecto inhibitorio del tono del tejido que es incluso significativamente mayor al efecto inducido por el veneno solo (Figura 12). Es importante observar que la amplitud de las contracciones espontáneas del íleon aumenta en presencia del veneno de *C. límpidus*, misma que no se modifica en presencia del extracto acuoso de *I. murucoides* (Figura 11).

En un estudio publicado por Zamilpa y col., 2014, evaluaron el veneno de *C. limpidus* sobre las contracciones espontaneas de íleon aislado de cobayo, el cual produjo contracciones en el tejido, y este se inhibió al agregar 161.47 µg/ml de un extracto de baja polaridad de las raíces de *Aristolochia elegans* D. Parodi (Zamilpa y col., 2014). En otro estudio realizado por Jimenez-Ferrer y col. en 2015 utilizaron 14 ug/mL de veneno de *C. limpidus* en íleon asilado de cobayo y reportan que el tejido se mantiene contraído por 6 a 7 minutos, y esta acción se revierte al agregar extractos de *Aristolochia elegans* y *Bourvardia ternifolia* CAV. 80 y 40 µg/mL respectivamente.

El veneno de *C. limpidus* contiene toxinas que se unen a los canales de sodio incrementando la conductancia de iones Na⁺, lo que produce un aumento en la excitabilidad del tejido por la liberación de acetilcolina y otros neurotransmisores que se observa como un aumento en la amplitud de las contracciones en el tejido (Jimenez-Ferrer y col., 2005), como se encontró en los estudios previos con segmentos de íleon aislados de cobayo (Zamilpay col., 2014; Jimenez-Ferrer y col., 2005). En este estudio, también se observó un aumento en la amplitud de las contracciones del tejido, pero predominó una disminución en el tono del músculo que fue más evidente, esto puede deberse a diferencias interindividuales en la producción de ciertos componentes de los venenos de las especies colectadas, además de que no se descartan posibles diferencias entre los tejidos de rata y cobayo.

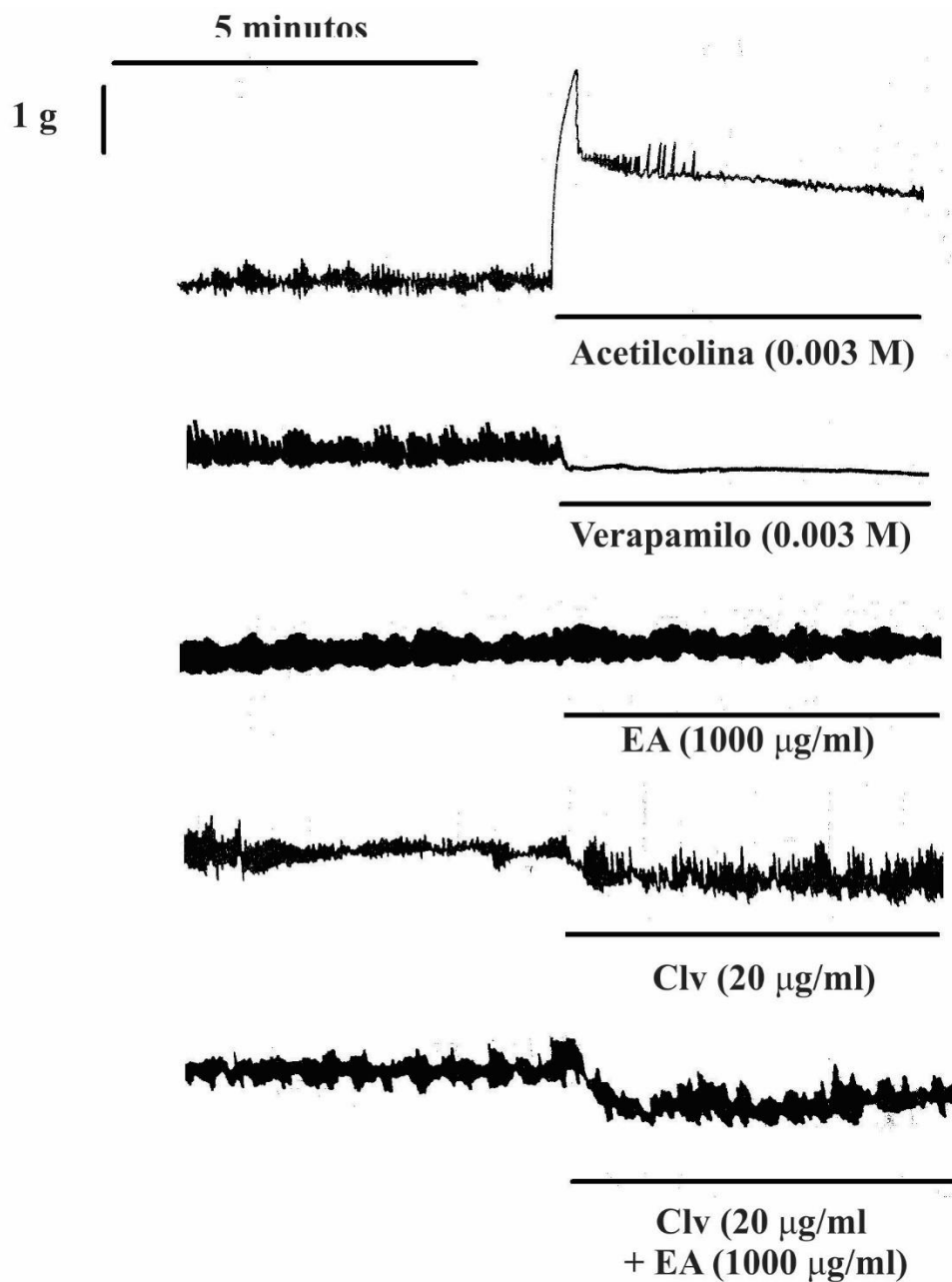


Figura 11. Registro de las contracciones de íleon aislado de rata. Controles A: Acetilcolina (0.003 M) y B: Verapamilo (0.003). Efecto producido por C: Extracto acuoso (EA) de las hojas de *Ipomoea murucoides* (1000 µg/ml), D: Veneno de *Centruroides limpidus* (20 µg/ml) y E: preincubación 20 µg/ml de veneno de *C. limpidus* con 1000 µg/ml del extracto acuoso de las hojas de *I. murucoides*.

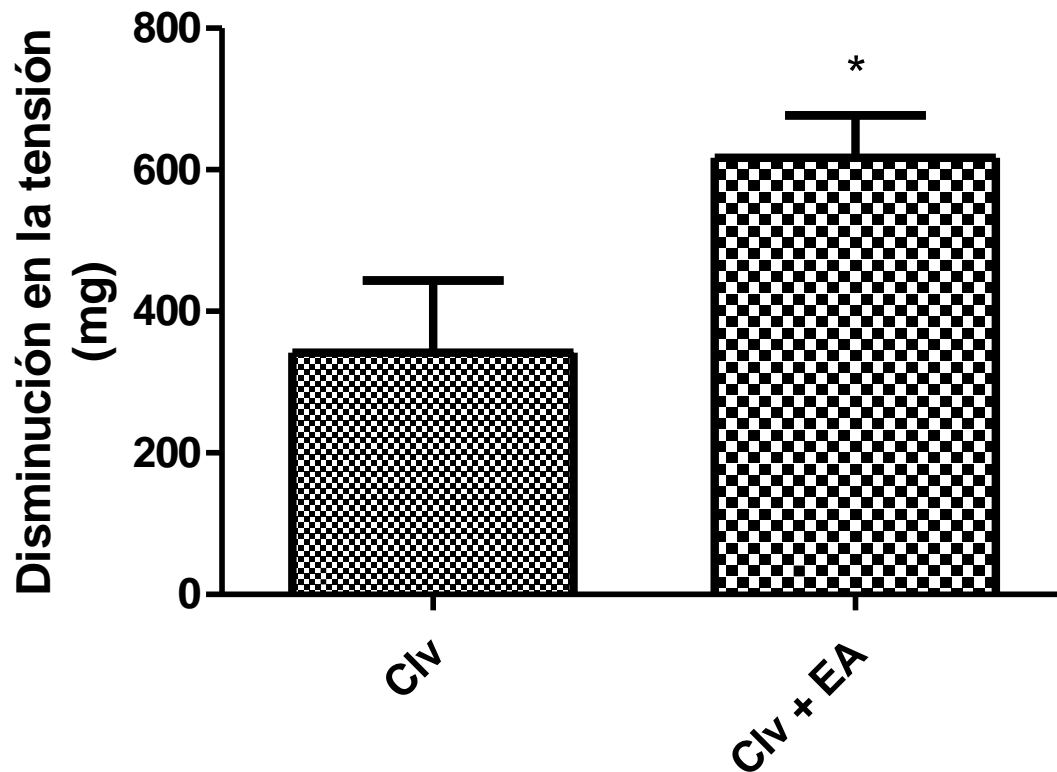


Figura 12. Disminución de la tensión en íleon aislado de rata, en presencia de veneno de *C. limpidus* (CIV, 20 $\mu\text{g/ml}$), y de veneno pre-incubado con el extracto acuoso (EA) de las hojas de *I. muruoides* (1000 $\mu\text{g/ml}$). *Diferencias significativas mediante t de Student ($P < 0.05$).

7.5 Evaluación de la inhibición de la actividad de fosfolipasa A₂

Se evaluó la actividad fosfolipasa del veneno de *Centruroides limpidus*, y como se puede observar en la Figura 13, no cuenta con esta actividad enzimática de fosfolipasa A₂. Esto era de esperarse debido a que lo que se ha reportado en la literatura es que las fosfolipasas en este veneno solo se han hallado a nivel transcriptómico, y no como tal en el proteoma de su veneno (Cid-Urbe, 2017).

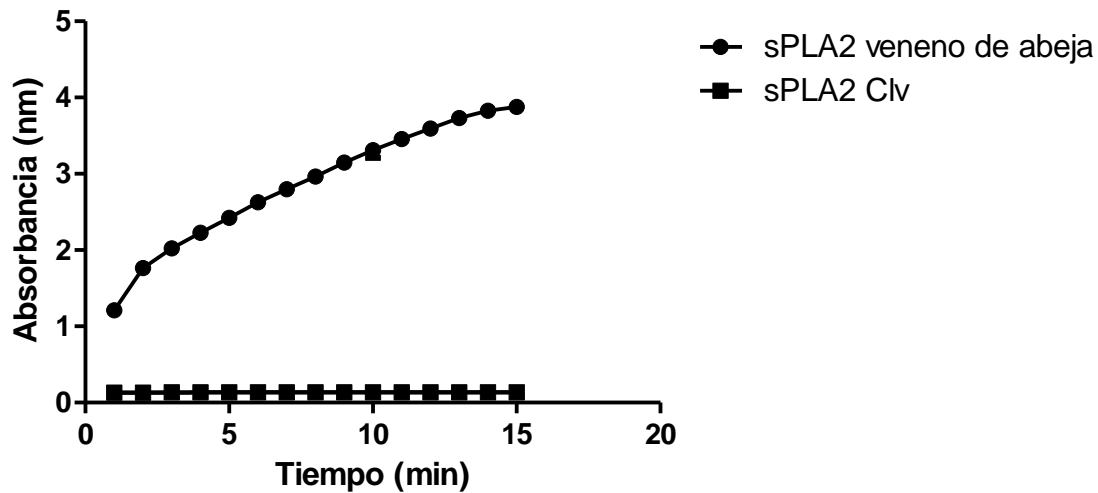


Figura 13. Actividad fosfolipasa del veneno de *C. limpidus* (sPLA2 Clv) en comparación con la actividad de una fosfolipasa del veneno de abeja (sPLA2 veneno de abeja).

Debido a que el veneno de *C. limpidus* no presentó actividad fosfolipasa A_2 , no se realizaron los experimentos en presencia de los extractos de *I. muruoides* planeados para esta sección.

7.6 Evaluación de la inhibición de la actividad de hialuronidasa

En primera instancia se evaluó la actividad hialuronidasa del veneno de *C. limpidus* en comparación con una hialuronidasa de testículo bovino (HAasa), como se puede observar en la Figura 14. La evaluación de la actividad de hialuronidasa del veneno mostró una mayor actividad que la hialuronidasa de testículo bovino empleada como sustancia de referencia, a partir de la concentración 10 $\mu\text{g/ml}$ se obtuvo el 100% de degradación del ácido hialurónico.

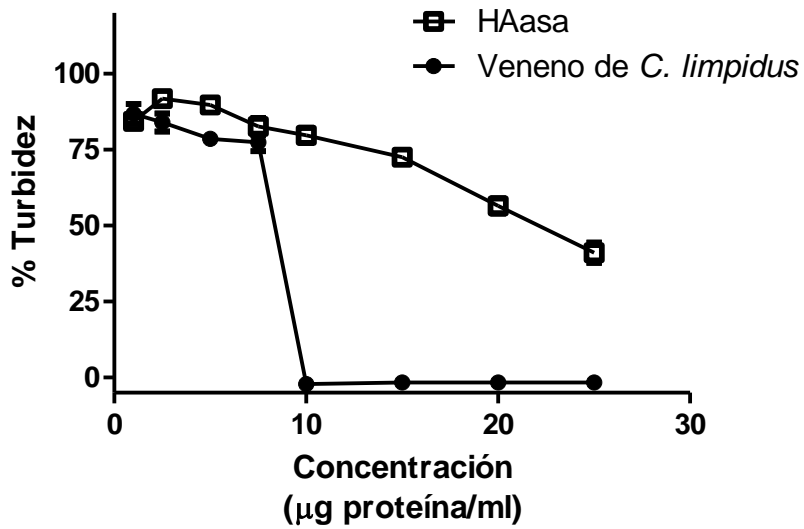


Figura 14. Actividad de hialuronidasa del veneno de *C. limpidus* comparada con la actividad del control positivo de hialuronidasa de testículo bovino.

Posteriormente se evaluó la inhibición de la actividad hialuronidasa de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas y flores de *I. murucoides* a concentraciones de 100, 200 y 500 µg/ml contra el veneno de *C. limpidus* (5 µg de proteína). En la Figura 15 se muestran las gráficas de los porcentajes de actividad que tuvieron los extractos al inhibir la hialuronidasa del veneno de *C. limpidus*.

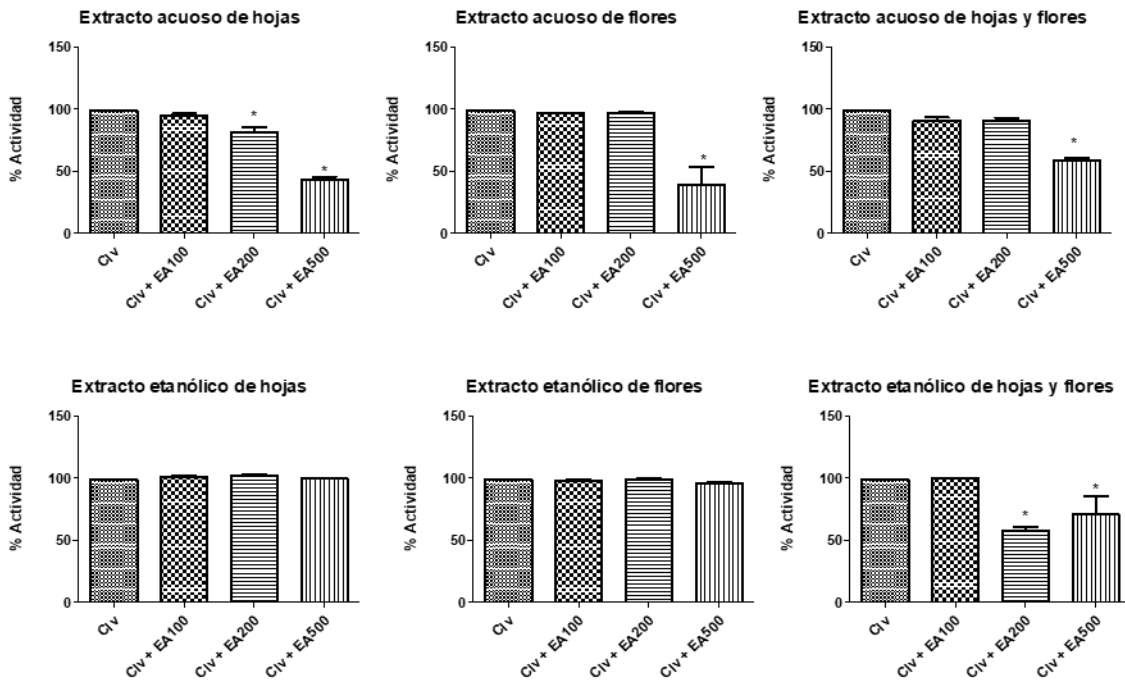


Figura 15. Inhibición de la actividad hialuronidasa de los extractos acuoso y etanólicos de las hojas y flores de *I. mururoides* contra el veneno de *C. limpidus* (5 µg proteína). *Diferencias significativas mediante ANOVA de una vía seguido de un análisis de Dunnett ($P < 0.05$).

Al evaluar la actividad anti-hialuronidasa de los extractos, se encontró que el extracto acuoso de las hojas de *I. mururoides* reduce de manera significativa la actividad del veneno, los porcentajes de actividad fueron 94.43 ± 0.51 , 81.21 ± 4.06 , y 43.41 ± 2.39 a las concentraciones de 100, 200 y 500 µg/ml, respectivamente. El extracto acuoso de las flores inhibe de manera significativa la actividad enzimática del veneno, siendo los porcentajes de actividad 96.56 ± 0.71 , 96.79 ± 0.63 , y 39.34 ± 14.27 a las concentraciones 100, 200 y 500 µg/ml respectivamente. De manera similar, el extracto acuoso de las hojas y flores inhibió la actividad enzimática del veneno de manera significativa, los porcentajes de actividad fueron 90.87 ± 2.57 , 90.82 ± 2.31 y 58.82 ± 1.80 a las respectivas concentraciones de 100, 200 y 500 µg/ml.

Los extractos etanólicos de hojas y de flores no presentaron actividad anti-hialuronidasa sobre el veneno a las concentraciones evaluadas. Por otro lado, el

extracto combinado de hojas y flores si inhibió de manera significativa la actividad enzimática del veneno, los porcentajes de actividad fueron 99.46 ± 0.34 , 57.43 ± 2.94 , y 70.68 ± 14.81 a las concentraciones de 100, 200 y 500 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Las hialuronidasas son un componente común en algunos venenos, tienen como función principal degradar el ácido hialurónico de la matriz extracelular, lo que conlleva a una mejor distribución del veneno en los tejidos. Además de esta función principal, se ha encontrado que estas enzimas también forman parte del proceso inflamatorio, ya que los fragmentos de ácido hialurónico de mediano y bajo peso molecular que se generan tras la acción de estas enzimas tienen propiedades proinflamatorias (Fronza y col., 2014). Este efecto podría explicar uno de los posibles mecanismos mediante los cuales los componentes presentes en los extractos acuosos de *I. muruoides* podrían estar generando su efecto anti-inflamatorio sobre el veneno de *C. limpidus*. Sin embargo, se requieren más estudios para comprobar esta relación entre el efecto de las hialuronidasas y la inflamación.

No se encontraron estudios que prueben el potencial anti-hialuronidasa de extractos de productos naturales contra el veneno de *Centruroides limpidus*, pero se ha demostrado que inhibir con anticuerpos la actividad hialuronidasa del veneno *Tityus serrulatus* (que también pertenece a la familia Buthidae) disminuye su biodistribución en el organismo de la presa (Guerra-Duarte y col., 2019; Olivera-Mendes y col., 2019), lo cual lo vuelve un blanco molecular interesante para diseñar nuevos antivenenos. Por otro lado, en un estudio publicado por Pessini y colaboradores (2001) evaluaron algunos flavonoides y lactonas sesquiterpénicas con una hialuronidasa purificada del veneno de *T. serrulatus*, donde encontraron que la centauredina produjo más del 90% de inhibición de la actividad hialuronidasa (50 $\mu\text{g/ml}$).

Otros investigadores se han dedicado a evaluar la actividad anti-hialuronidasa de otros productos naturales con venenos de serpientes. Como es el caso de un estudio en el que evalúan la actividad de la mimosina (alcaloide abundante en *Mimosa púdica* L.) contra una hialuronidasa aislada del veneno de *Daboia russellii* (Shaw & Nodder, 1797) encontrando que su efecto fue de manera dosis dependiente, y abolió la actividad de la enzima a una concentración de 24 μM (Mahadeswaraswamy y col.,

2011). En otro estudio prueban un extracto metanólico de *Adrographis paniculata* en combinación con un antiveneno de serpiente frente al veneno de *Naja naja*, obteniendo como resultado hasta un 44% de inhibición de la hialuronidasa del veneno (200 µg) al ensayar 400 µg del extracto (Ganesh y col., 2020).

8. CONCLUSIONES

En este estudio se encontró que el veneno de *C. limpidus* contiene enzimas con actividad de hialuronidasa pero no contiene enzimas con actividad de fosfolipasa A₂. La actividad de hialuronidasa del veneno de *C. limpidus* se inhibió significativamente por los extractos acuosos de las hojas y flores de *I. muruoides*. Dichos extractos también mostraron la capacidad de inhibir el efecto inflamatorio de edema plantar producido por el veneno de *C. limpidus*. Por otro lado, los experimentos con segmentos de íleon aislados de rata mostraron que el extracto acuoso de *I. muruoides* modifica de manera significativa el efecto del veneno sobre las contracciones espontáneas de los segmentos de íleon.

9. REFERENCIAS

Almaaytah y Albalas. Scorpion venom peptides with no disulfide bridges: A review. *Peptides*. **2014**;51:35–45.

Alonso-Castro. Use of medicinal fauna in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **2014**;152:53-70.

Aloulou, Rahier, Arhab, Noiriél, Abousalham. Phospholipases: An Overview. *Methods in Molecular Biology*, **2018**;1835:69-105.

Boto, Pérez, González. The Road from Host-Defense Peptides to a New Generation of Antimicrobial Drugs. *Molecules*, **2018**;23:311:1-26.

Carcamo-Noriega, Possani y Ortiz. Venom content and toxicity regeneration after venom gland depletion by electrostimulation in the scorpion *Centruroides limpidus*. *Toxicon*, **2018**;157:87-92.

Castañeda-Gómez, González-Acosta, Moreno-García, Villegas-Trejo. Dosis letal y diagnóstica de carbamatos para *Centruroides limpidus* Karsch, 1879 (Scorpiones Buthidae), de Morelos, México. *Salud Pública de México*, **2020**;62:3:234-235.

Cetséle y Caterall. Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. *Biochimie*, **2000**;82:883-892.

Chen, Hu, Han, Yin, He, Wu, Cao, Li. ImKTx1, a New Kv1.3 Channel Blocker with a

Unique Primary Structure. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **2011**;25:4:244-251.

Chen, Hu, Yang, He, Feng, Wang, Zhao, Ding, Cao, Li, Wu. Hg1, Novel Peptide Inhibitor Specific for Kv1.3 Channels from First Scorpion Kunitz-type Potassium Channel Toxin Family. *Journal of Biological Chemistry*, **2012**;287;17:13813-13821.

Cherigo. Resinas glicosídicas de las flores de *Ipomoea murucoides*. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, **2007**.

Chérigo, Pereda-Miranda. Resin glycosides from the flowers of *Ipomoea murucoides*. *J. Nat. Prod.*, **2006**;69:595-599.

Chérigo, Pereda-Miranda, Fragoso-Serrano, Jacobo-Herrera, Kaatz, Gibbons. Inhibitors of bacterial multidrug efflux pump from the resin glycosides of *Ipomoea murucoides*. *J. Nat. Prod.*, **2008**;71:1037-145.

Chippaux. Emerging options for the management of scorpion stings. *Drug design, development and therapy*, **2012**;6:165-173.

Chippaux y Goyffon. Antivenom serotherapy: its applications, its limitations, its future. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique*, **1991**;84:3:286-297.

Cid-Uribe, Jiménez, Ferreira, Zamudio, Possani. Comparative proteomic analysis of female and male venoms from the Mexican scorpion *Centruroides limpidus*: Novel

components found. *Toxicon*, **2017**;125:91-98.

Cid-Uribe, Meneses, Batista, Ortiz, Possani. Dissecting Toxicity: The Venom Gland Transcriptome and the Venom Proteome of the Highly Venomous Scorpion *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879). *Toxins*, **2019**;11:247:1-21.

Cid-Uribe, Veytia-Bucheli, Romero-Gutierrez, Ortiz y Possani. Scorpion venomics: a 2019 overview. *Expert Review of Proteomics*, **2019**;17:1:67-83.

Corona, Gurrola, Merino, Cassulini, Valdez-Cruz, García, Ramírez-Domínguez, Coronas, Zamudio, Wanke, Possani. A large number of novel Ergtoxin-like genes and ERG K_p-channels blocking peptides from scorpions of the genus *Centruroides*. *FEBS Letters*, **2002**;532:1-2:121-126.

Corona-Castañeda. Un nuevo lipopentacárido del ácido simónico B de las resinas glicosídicas del Cazahuate (*Ipomoea murucoides*), una planta medicinal mexicana. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, **2008**.

Corona-Castañeda, Chérigo, Fragoso-Serrano, Gibbons, Preda-Miranda. Modulators of antibiotic activity from *Ipomoea murucoides*. *Phytochemistry*, **2013**;95:277-283.

Cremonez, Maiti, Peigneur, Silva, Dutra, Waelkens, Lescrinier, Herdewijn, de Lima, Pimenta, Arantes, Tytgat. Structural and Functional Elucidation of Peptide Ts11 Shows Evidence of a Novel Subfamily of Scorpion Venom Toxins. *Toxins*, **2016**;8:288:1-14.

Cruz, Diaz, Sook. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental

treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharmaceutical Biology*. **2017**;55:1:1992-1998.

da Silva, de Souza, Rocha, da Silva, dos Anjos, Pastor, Belle, García, Santin, Meira. *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br (Convolvulaceae) as a topical herbal medicine to relieve pain and inflammation – promising tool against effects due to toxin-skin contact. *Journal of ethnopharmacology*; **2017**;22:200:156-164.

De Lira, Ramírez-Mares, Sánchez-López, Ramírez-Lepe, Salas-Coronado, Santos-Sánchez, Valadez-Blanco, Hernández-Carlos. Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. *Frontiers in Microbiology*, **2014**;5:383:1-10

Delgado-Prudencio, Possani, Becerril, Ortiz. The Dual α -Amidation System in Scorpion Venom Glands. *Toxins*, **2019**;11:425:1-15.

De Souza-Lima, Olivera, Furtado, Oliveira, Medeiros, da Silva-Junior, Tabosa, Vilarinho, Zucolotto, Fernandes-Pedrosa. *Ipomoea asarifolia* neutralizes inflammation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Journal of Ethnopharmacology*, **2014**;153:3:890-895.

Dhananjaya y Souza. The pharmacological role of nucleotidases in snake venoms. *Cell Biochemistry and Function*, **2010**;28:171–177.

Díaz-Peña, Cuéllar-Balleza, Aguilar, Lazcano-Pérez, Arreguín-Espinosa, Ibarra-Alvarado, García-Arredondo. Rat aorta relaxation induced by the venom of *Poecilotheria regalis* involves the activation of NO/cGMP pathway. *Toxicon*,

2019;163:12-18.

Fernández-Taboada, Riaño-Umbralia, Olvera-Rodriguez, Gómez-Ramírez, Losoya-Uribe, Becerril. The venom of the scorpion *Centruroides limpidus*, which causes the highest number of stings in Mexico, is neutralized by two recombinant antibody fragments. *Molecular Immunology*, **2021**;137:247-255.

Flores-Palacios, Corona López, Ríos, Aguilar-Guadarrama, Toledo-Hernández, Rodríguez-López, Valencia-Díaz. Is Allelopathic Activity of *Ipomoea murucoides* Induced by Xylophage Damage? *Plos One*, **2015**; 10:12:1-13.

Fronza, M., Caetano, G. F., Leite, M. N., Bitencourt, C. S., Paula-Silva, F. W. G., Andrade, T. A. M., et al. Hyaluronidase Modulates Inflammatory Response and Accelerates the Cutaneous Wound Healing. *PLoS ONE*, **2014**; 9(11): e112297.

Furtado, Torres-Rego, Lima, Bitencourt, Esterla, da Silva, Siqueira, Tomaz, Peporine, Silva-Junior, Zucolotto, Fernandes-Pedrosa. Aqueous extract from *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) leaves and its phenolic compounds have anti-inflammatory activity in murine models of edema, peritonitis and air-pouch inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, **2016**;192:225-235.

Ganesh, Kumar, Shenoy, Roche. Anti-snake venom and methanolic extract of *Andrographis paniculata*: a multipronged strategy to neutralize *Naja naja* venom acetylcholinesterase and hyaluronidase. *3 Biotech*, **2020**;476:10:1-12.

García-Arredondo, Martínez, Calderón, Saldivar, Soria. Preclinical assessment of a new polyvalent antivenom (Inoserp Europe) against several species of the subfamily Viperinae. *Toxins*, **2019**;11:149.

García-Arredondo, Rojas-Molina, Ibarra-Alvarado, Lazcvano-Pérez, Arreguín-Espinosa, Sánchez-Rodríguez. Composition and biological activities of the aqueous extracts of three scleractinian corals from the Mexican Caribbean: *Pseudodiploria strigosa*, *Porites astreoides* and *Siderastrea siderea*. J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., **2016**;22:32.

García, Fernández, Álvarez, Sáenz. Antinociceptive and Anti-inflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemose* var *ozua* (Mirtaceae). J. Ethnopharmacol, **2004**;91:69-73

Giovannini, Howes. Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. Journal of Ethnopharmacology, **2017**:1:1-49.

González-Santillán, North American scorpion species of public health importance with a reappraisal of historical epidemiology. Acta Tropica, **2018**;187:264-274.

Guerra-Duarte, Rebello, Ribeiro, de Freitas, Costal-Olivera, Stransky, Fonseca, Campolina, Pereira, Lira-da-Silva, Machado, Kalapothakis, Chávez-Olórtegui. Determination of hyaluronidase activity in *Tityus spp.* Scorpion venoms and its inhibition by Brazilian antivenoms. Toxicon, **2019**;167:134-143.

Gurrola, Rosati, Rocchetti, Pimienta, Zaza, Arcangeli, Olivotto, Possani, Wanke. A toxin to nervous, cardiac, and endocrine ERG K1 channels isolated from *Centruroides noxius* scorpion venom. Thr FASEB Journal, **1999**;13:8:953–962.

Isbister y Bawaskar. Scorpion Envenomation. The England New Journal of Medicine, **2014**;371:5:457-463.

Jimenez-Ferrer, Perez-Teran, Roman-Ramos, Tortoriello. Antitoxin activity of plants used in Mexican traditional medicine against scorpion poisoning. Phytomedicine, **2005**;12:116-122.

Krogh, Kroth, Berti, Madeira, Souza, Cechinel-Filho, Delle-Monache, Yunes. Isolation and identification of compounds with antinociceptive action from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. Pharmazie, **1999**;54:6:464-6.

Law, Zhang, McGowan, Buckle, Silverman, Wong, Rosado, Langendorf, Pike, Bird, Whisstock. An overview of the serpin superfamily. Genome Biology, **2006**;7:5:216.1-216.11.

León, Enríquez, Nieto, Alonso, Reynolds, Aranda, Villa. Pentasaccharide glycosides from the roots of *Ipomoea murucoides*. J. Nat. Prod., **2005**;68;8:1141-1146.

León-Rivera, Río-Portilla, Enríquez, Rangel-López, Villeda, Ríos, Navarrete-Vázquez, Hurtado-Díaz, Guzman-Valdivieso, Núñez-Urquiza, Martínez-Escobedo. Hepta-, Hexa-, Penta-, Tetra-, and Trisaccharide Resin Glycosides from Three Species of *Ipomoea* and their Antiproliferative Activity on Two Glioma Cell Lines. Magn. Reason. Chem., **2017**;55:3:214-223.

López-Giraldo, Olamedi-Portugal, Riaño-Umbralia, Becerril, Possani., Delepierre, del Río-Portilla. The three-dimensional structure of the toxic peptide Cl13 from the scorpion *Centruroides limpidus*. Toxicon, **2020**;184:158-166.

López-Rubaclava, Estrada-Camarena. Mexican medicinal plants with anxiolytic or antidepressant activity: Focus on preclinical research. *Journal of Ethnopharmacology*, **2016**;186:377-391.

Luna-Vázquez, Ibarra-Alvarado, Camacho-Corona, Rojas-Molina, Rojas-Molina, García, Bah. Vasodilator activity of compounds isolated from plants used in Mexican traditional medicine. *Molecules*, **2018**;23:6:2-17.

Ma, Xiao-Peng, Yang, Lu, Lai. Protease inhibitor in scorpion (*Mesobuthus eupeus*) venom prolongs the biological activities of the crude venom. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **2016**;14:8:607–614.

Mahadeswaraswamy, Manjula, Devaraja, Girish, Kemparaju. Daboia russelli Venom Hyaluronidase: Purification, Characterization and Inhibition by beta-3-(3-Hydroxy-4-Oxopyridyl) alpha-Amino-Propionic Acid. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2011**;11:2556-2565.

Martin, Ramirez, Gurrola, Nobile, Prestipino, Possani. Novel K⁺-channel-blocking toxins from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus limpidus* Karsch. *J. Biochem*, **1994**;304:51-56.

Martínez-Alva, Espinoza-Simón, Bayona-Pérez, Ruiz-Pérez, Ochoa, Xichotencatl-Cortes, Torres, Romo-Castillo. In Vitro Analysis of Extracts of Plant Used in Mexican Traditional Medicine, Which Are Useful to Combat *Clostridioides difficile* Infection. *Pathogens*, **2022**;11:1-11.

Meira, Pereira, David, David. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **2012**;22:3:682-713.

Moreels, Peigneur, Yamaguchi, Vriens, Waelkens, Zhu, Thevissen, Cammue, Sato, Tytgat. Expanding the pharmacological profile of κ -hefutoxin 1 and analogues: A focus on the inhibitory effect on the oncogenic channel Kv10.1. *Peptides*, **2017**;98:43-50.

Mortari, do Couto, dos Anjos, Mourão, Camargos, Vargas, Oliveira, Gati, Schwartz, Schwartz. *Synoeca cyanea* venom: an aggressive social wasp widely distributed in the Neotropical region. *Toxicon*, **2012**;59:163-170.

Mouhat, Andreotti, Jouirou, Sabatier. Animal Toxins Acting on Voltage-Gated Potassium Channels. *Current Pharmaceutical Design*, **2008**;14:2503-2518.

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf

Norma Oficial Mexicana NOM-005-STPS-1998, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas. Recuperado de: <https://asinom.stps.gob.mx/upload/noms/Nom-005.pdf>

Olamedi-Portugal, Restano-Cassulini, Riaño-Umbrila, Becerril, Possani. Functional and immuno-reactive characterization of a previously undescribed peptide from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus*. *Peptides*, **2017**;87:34-40.

Olivera-Mendes, Mendes, Ferreira, de Freitas, Kalapothakis, de Souza, Nascimento,

Branco, Guerra-Duarte, Kalapothakis, Rebello. Inhibition of *Tityus serrulatus* venom hyaluronidase affects venom biodistribution. PLOS Neglected Tropical Diseases, **2019**;13:4:1-17.

OPS Organización Panamericana de la Salud. Envenenamientos por mordeduras de animales ponzoñosos, **2020**. Recuperado de: <https://www.paho.org/es/temas/envenenamientos-por-mordeduras-animales-ponzonosos>.

Pedraza y Possani. Scorpion beta-toxins and voltage-gated sodium channels: interactions and effects. Front. Biosci., **2013**;18:2:572–587.

Pongprayoon¹, Bohlin, Wasuwat. Neutralization of toxic effects of different crude jellyfish venoms by an extract of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. Journal of Ethnopharmacology, **1991**;35:65-9.

Pongprayoon², Baeckstrom, Jacobsson, Lindstrom, Bohlin. Compounds inhibiting prostaglandin synthesis isolated from *Ipomoea pes-caprae*. Planta Med, **1991**;57:6:515-518.

Quintero-Hernández, Jiménez-Vargasa, Gurrolaa, Valdiviab, y Possani. Scorpion venom components that affect ion-channels function. Toxicon, **2013**; 76:328-42.

Ribeiro, Mendes, Sales-Medina, de Freitas, Kalapothakis, de Souza, Nascimento Cardoso, Branco, Guerra-Duarte, Kalapothakis, Rebello. Inhibition of *Tityus serrulatus* venom hyaluronidase affects venom biodistribution. Neglected Tropical Diseases, **2019**;13:4:1-17.

Rode-Margono y Anne-Isola. Cabinet of Curiosities: Venom systems and their ecological function in mammals, with a Focus on Primates, Toxins, **2015**;7:2639- 2658.

Rodríguez-Ríos, Díaz-Peña, Lazcano-Pérez, Arreguín-Espinosa, Rojas-Molina, García-Arredondo. Hyaluronidase-like enzymes are a frequent component of venoms from theraphosid spiders. *Toxicon*, **2017**;136:34-43.

Rojas, Torres, Rojas, Feregrino, Heimer de la Cotera. Calcium-dependent smooth muscle excitatory effect elicited by the venom of the hydrocoral *Millepora complanate*. *Toxicon*, **2002**;40:777-785.

Shafee, Lay, Phan, Anderson, Hulett. Convergent evolution of defensin sequence, structure and function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **2016**;74:4:663–682.

Sharma, Flores-Vallejo, Cardoso-Taketa, Villarreal. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **2017**;208:264-329.

Silva-Domínguez, Paredes-Solís, Cortés-Guzmán, Flores-Moreno, Baldazo-Monsivaiz, Anderson, Cockcroft. Factores asociados con la picadura de alacrán en escolares: estudio transversal en dos comunidades rurales de Guerrero, México. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*; **2019**:76:79-86.

Souza, Madeira, Berti, Krogh, Yunes, Cechinel-Filho. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. *Journal of Ethnopharmacology*; **2000**:69:1:85-90.

Secretaria de Salud. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Intoxicación por Ponzón de Animales. **2010.** Recuperado de: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/13049/sem38.pdf>

Secretaria de Salud. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Intoxicación por Picadura de Alacrán. **2012.** Recuperado de: https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/26_Manual_Picadura_Alacran.pdf

Trinidad-Porfirio, Morales-Pérez, Nava-Aguilera, Flores-Moreno, Morales-Nava, García-Leyva, Silva-Domínguez, Cortés-Guzmán, Fernández-Salas, Andersson. Occurrence of scorpion sting and associated factors in a highly marginalized municipality in Guerrero, Mexico: A cross-sectional study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, **2023**;17;5:1-13.

Tseng, Mikajiri, Shibuya, Goda, Ebizuka, Padmawinata, Sankawa. Effects of some phenolics on the prostaglandin synthesizing enzyme system. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **1986**;34:1380-1383.

Tytgat, Chandy, Garcia, Gutman, Martin-Eauclaire, van der Walt, Possani. A unified nomenclature for short-chain peptides isolated from scorpion venoms: α -KTx molecular subfamilies. *Trends Pharmacol Sci.*, **1999**;20:11:444-447.

Wood, Muñoz-Rodríguez, Williams, Scotland. A foundation monograph of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the New World. *Phytokeys*, **2020**;143:1-823.

Xavier-Santos, Ramos, Santos, Cavalcante, Ferreira, Barreto, Moreira, Peporine, Araujo-Junior, Zuxolotto, Silva-Junior, Félix-Silva, Fernandes-Pedrosa. Topical gel containing phenolic-rich extract from *Ipomoea pes-capre* leaf (Convolvulaceae) has anti-inflammatory, wound healing, and antiophidic Properties. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **2022**;149:112921.

Zaho, Dai, Qiu, Li, He, Ma, Chen, Wu, Li, Cao. SdPI, The First Functionally Characterized Kunitz-Type Trypsin Inhibitor from Scorpion Venom. *Plos One*, **2011**;6:11:1-10.

Zamilpa, Abarca-Vargas, Ventura-Zapata, Osuna-Torres, Zavala, Herrera-Ruiz, Jimenez-Ferrer, Gonzalez-Cortazar. Neolignans from *Aristolochia elegans* as antagonists of the neurotropic effect of scorpion venom. *Journal of Ethnopharmacology*, **2014**;157:156-160.

Zilberberg, Froy, Loret, Cestele, Aradi, Gordoni, Gurevitz. Identification of Structural Elements of a Scorpion α -Neurotoxin Important for Receptor Site Recognition. *The Journal of Biological Chemistry*, **1997**;272:23:14810-14816.